

Untersuchungen über das fibrinolytische System bei Leukosen

Peter Beckmann

1964

Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik in Frankfurt/M.

Direktor: Prof. Dr. Frey

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS FIBRINOLYTISCHE SYSTEM
BEI LEUKOSEN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin

der hohen medizinischen Fakultät der

Johann Wolfgang Goethe-Universität

zu Frankfurt am Main

vorgelegt von

Peter Beckmann

aus Berlin

Frankfurt am Main 1964

Dekan : Prof. Dr. J. Frey
Referent : Prof. Dr. J. Jürgens
Korreferent : Prof. Dr. A. Wacker
Mündliche Prüfung : 25. September 1964



EINLEITUNG und PROBLEMSTELLUNG

THEORETISCHER TEIL

- A) Über das fibrinolytische System
 - 1) Plasminogen - Plasmin
 - 2) Aktivierung des fibrinolytischen Systems
 - a. in vitro
 - b. durch Körperflüssigkeiten
 - c. durch Gewebeaktivatoren
 - d. durch Lysokinasen
 - e. spontan
 - 3) Hemmung durch Inhibitoren
- B) Die physiologische Bedeutung der Fibrinolyse

EXPERIMENTELLER TEIL

- A) Angewandte Methoden zur Untersuchung des fibrinolytischen Systems
 - I Abgrenzung einzelner Faktoren:
 - 1) Bestimmung des Aktivators des Plasminogens
Prinzip und Ausführung
 - 2) Bestimmung des Plasminogens, Prinzip und Ausführung
 - 3) Bestimmung von Inhibitoren, Prinzip und Ausführung
 - a) Antistreptokinase
 - b) Antiaktivator und Antiplasmin
 - II Quantitative Bestimmung des Tyrosins
 - III Material und Reagenzien
 - IV Gewinnung des Plasmas
 - V Herstellung der Euglobulin-Pufferlösung
- B) Ergebnisse der Untersuchungen
- C) Diskussion

ZUSAMMENFASSUNG

LITERATURVERZEICHNIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554805_0009

EINLEITUNG und PROBLEMSTELLUNG

Die Leukämie zählt heute noch zu den unheilbaren Krankheiten; sie führt unabwendbar zum Tode. Einwirkende Therapie, die in endgültiger Heilung endet, kennt man nicht. Vor allem sind wir heute noch nicht in der Lage, eine Kausaltherapie zu betreiben, da noch zu viele Fragen über Wesen und Ursprung der Leukämie offenstehen. So hat die Leukämiebehandlung heute nur einen haltenden und das Leben verlängernden Charakter.

Über das Wesen der Leukämie gehen die Ansichten der Wissenschaftler bis in die heutige Zeit auseinander. Während eine Gruppe die Leukämie als Geschwulst des blutbildenden Parenchyms ansieht, deuten die anderen die Leukämie als reaktive Hyperplasie dieses Parenchyms.

Nach der Geschwulsttheorie entsteht zunächst ein Primärtumor, bestehend aus primär entarteten Zellen, von dem aus eine umfangreiche Metastasierung sowohl innerhalb als auch außerhalb des Knochenmarkes erfolgt. R o t t e r (55) hält dem entgegen, dass ein Primärtumor selten nachweisbar ist und dass eine Metastasierung ebenfalls nicht zu beweisen ist, da auch normalerweise Knochenmarkszellen sich extramedullär ansiedeln und vermehren können. Auch spricht die Tatsache gegen die Geschwulstnatur der leukämischen Infiltrate ("Metastasen"), dass die leukotischen Zellen die Gewebe zwar infiltrieren, sie jedoch nicht zerstören, wie es von einem bösartigen Tumor zu erwarten wäre.

Die Tumorgenese läßt sich auch nicht beweisen durch typische morphologische Tumoreigenschaften wie Polymorphie, Atypie der Zellen und Kerne, Mitosevermehrung und Mitoseatypien.

R o t t e r und B ü n g e l e r (55) sehen vielmehr in der Leukämie eine "gesteuerte bzw. fehlgesteuerte, plurizentrisch und autochthon entstehende Reaktion bei myeloider Insuffizienz z.T. infektiöser, z.T. unbekannter u.E. unterschiedlicher Ätiologie". Die Autoren sehen als gemeinsame Wurzel aller reaktiver Systemhyperplasien, einschließlich der akuten Leukämien, Erythrämien, Erythroleukämien und der chronischen aleukämischen Myelosen, eine Insuffizienz des myeloiden Systems an, verursacht durch eine Schädigung unbekannter Ätiologie.

Diese Insuffizienz sucht der Organismus zunächst durch intraossee, bei größerem Ausmaß auch durch extraossee myeloide Hyperplasie bzw. Metaplasie zu kompensieren. Der Anreiz zu diesem Kompensationsvorgang erfolgt durch neurohumorale Regulationssysteme. Beschränkt sich die Schädigung auf das Knochenmark, so können extraossee durchaus funktionstüchtige Infiltrate entstehen, die den klinischen Normalzustand des Patienten aufrechterhalten. Liegt jedoch eine generelle Systemschädigung vor, so ergibt sich das Bild der akuten Leukämie mit linksverschobenen intra- und extramedullären Infiltraten. Dieser vergebliche Kompensationsvorgang schießt, da er qualitativ nicht ausreicht, quantitativ über das Ziel hinaus.

Die eigentlichen Ursachen, die zur myeloischen Insuffizienz und damit der Leukämie führen, sind wahrscheinlich unterschiedlich und vielseitig. Über sie wissen wir noch recht wenig.

Immerhin ist bekannt, dass durch Infekte (z.B. bei Lobärpneumonie), auch Virusinfektionen, chemische Toxine und Strahlen leukämische Reaktionen mit beträchtlich hohen Leukocytenzahlen im Blut auftreten können (55).

Auch auf dem Gebiet der Fibrinolyseforschung ist man heute noch weit von der Lösung aller sich aufdrängenden Fragen entfernt. Obwohl die Auflösung von Blutkoagula schon seit etwa 120 Jahren bekannt ist (21) und bereits 1893 von D a s t r e (20) dafür der Begriff "Fibrinolyse" geprägt wurde, erfolgte die nähere Erforschung des fibrinolytischen Systems erst in den vergangenen 20 - 30 Jahren. Heute verstehen wir unter Fibrinolyse die fermentative Spaltung der Fibrinmakromoleküle durch das fibrinolytische Enzym Plasmin zu kleineren, löslichen Molekülen. Das Plasmin entsteht aus einer inaktiven Vorstufe, als Ergebnis einer komplizierten Reaktionskette von aktivierenden und hemmenden Faktoren. Da das Plasmin aber nicht nur Fibrin auflöst, sondern auch in der Lage ist, Fibrinogenmoleküle zu spalten und zu zerstören, kommt es bei übermäßiger Aktivierung des fibrinolytischen Systems zu einem Fibrinogenmangel und damit zu einer Blutungsgefahr.

Leukämien zeigen oft eine deutliche Blutungstendenz, welche besonders ausgeprägt ist bei akuten Formen und akuten Schüben chronischer Formen. Diese Blutungen stellen eine ernste Komplikation dar, welche oft die direkte Todesursache bildet und therapeutisch bis heute kaum zu beherrschen ist. Fragt man nach den Ursachen dieser Blutungen, so muß man feststellen, dass es mehrere gibt und dass sie von verschiedenen Autoren verschieden beurteilt werden. In vielen Fällen

findet man eine Thrombopenie als Ursache leukämischer Blutungen. Der Thrombocytenmangel ist dabei Folge einer Verdrängung des plättchenbildenden Apparates durch das leukopoetische Gewebe. Blutungen finden sich im allgemeinen bei einer Senkung der Thrombocyten unter eine kritische Grenze von 30 000 pro mm³. Bei leukämischen Blutungen kommt man jedoch zu der Feststellung, dass diese kritische Grenze nicht immer unterschritten wird, sondern dass vielmehr Blutungen bei an sich ausreichenden Plättchenzahlen auftreten. Ein von uns beobachteter Patient mit akuter Leukose zeigte ein Ansteigen der Thrombocyten von 75 000 auf 161 000 innerhalb von 8 Tagen. Trotzdem traten Blutungen auf: starkes Nasenbluten, Hautblutungen und Blutungen an inneren Organen, wie der Sektionsbefund ergab.

Interessante Beobachtungen über leukämische Blutungen machte G r o ß (28, 29). Der Autor stellte bei chronischen Myelosen, aber auch bei anderen Leukosen, bei Polycythämie, Eisenmangelanämie, Tumoren u.a. eine Vermehrung der Blutplättchen fest, die mit einer gleichzeitigen Thrombocytenfunktionsstörung verbunden war. Er schlägt für diese Kombination von Vermehrung und Funktionsstörung der Thrombocyten den Begriff der "Dysthrombocytose" vor und sieht darin eine Ursache leukämischer Blutungen. Die plasmatischen Gerinnungsfaktoren sind dabei normal und auch vaskuläre Faktoren kommen nur als zusätzliche Ursachen in Betracht (29). Die Funktionsstörung der Thrombocyten wäre hier Folge einer überstürzten Bildung und einer unreifen Ausschwemmung, ähnlich der Leukocytenbildung bei akuter Leukämie. Wir finden also hier die Tatsache, dass eine Erhöhung der Thrombocytenzahlen - scheinbar paradoxerweise - für den

Patienten eine Blutungsgefahr bedeutet.

Neben der erwähnten Thrombopenie und den Thrombocytenfunktionsstörungen kann eine leukämische Blutung auch durch einen Fibrinogenmangel ausgelöst werden. Einen solchen Fibrinogenmangel beobachtete R i s a k (53) bei 3 Fällen von akuter myeloische Leukose. Er dachte dabei an eine gestörte Fibrinogenbildung als Folge einer überstürzten intra- und extra-medullären Leukopoese, da man heute annimmt, dass das Fibrinogen nicht nur in der Leber, sondern auch im Knochenmark und in den Plasmazellen gebildet wird.

Wie bereits oben erwähnt kann es auch dadurch zu einem Fibrinogenmangel im Blut kommen, dass das Fibrinogen der Fibrinolyse zum Opfer fällt. Leukämische Blutungen, die auf einen derart verursachten Fibrinogenmangel zurückzuführen sind, stellen den Zusammenhang her zwischen Fibrinolyse und Leukämie, welcher im Thema der vorliegenden Arbeit zum Ausdruck kommt.

Beobachtungen über fibrinolytische Blutungen bei Leukämie wurden in den letzten Jahren von verschiedenen Autoren gemacht. So fanden P i s c i o t t a und S c h u l z (49) bei akuten Leukosen sowohl einen Fibrinogenmangel als auch eine Steigerung der Fibrinolyse. Sie sprachen von "fibrinolytic purpura", nachdem schon 1942 S t e f a n i n i (57) diesen Begriff für Blutungen fibrinolytischer Ursache geprägt hatte, die in der Geburtshilfe, bei Carcinomen, bei Operationen etc. auftraten.

C o o p e r b e r g und N e i m a n (18) sind der Ansicht, dass ein Fibrinogenmangel infolge Fibrinolysesteigerung in viel mehr Fällen vorhanden ist, als man bisher festgestellt und vermutet hat.

G i r a u d und Mitarbeiter (27), die von einem Patienten mit akuter myeloischer Leukose berichten, welcher an einer

hämorrhagischen Diathese starb, sehen als Ursache dieser Blutung ein Überwiegen der lytischen Faktoren infolge Insuffizienz des Antiplasmins. Sie konnten durch Gaben von Albumin, welches Antiplasmin enthält, einen Wiederanstieg der Fibrinogenwerte im Blut erreichen.

Auch unsere eigenen Beobachtungen über Blutungen bei Leukämiekranken mit ausreichender Thrombocytenzahl, bei denen gleichzeitig eine enorme Aktivierung der Fibrinolyse vorlag, bestätigen, dass fibrinolytische Blutungen bei der Leukämie nicht selten vorkommen und daher als Komplikation dieses an sich schon so schweren Krankheitsbildes gefürchtet werden müssen.

Von großem Interesse ist die Frage nach dem Mechanismus, durch den die Aktivierung des fibrinolytischen Systems erfolgt. V a n C r e f e l d und M o c h t a r (62) machten bei einem Fall von akuter Leukämie die Beobachtung, dass in vitro bei plättchenfreiem Plasma keine Fibrinolyse auftrat; durch Zugabe von Plättchen- und/oder Erythrocytensuspensionen trat eine Auflösung des Gerinnsels ein. Die Autoren schreiben daher den Thrombocyten und Erythrocyten eine Fibrinolyse auslösende Rolle zu. Nach Ansicht von D e u t s c h und E l s n e r (22) spielen die Leukocyten bei der Fibrinolyseaktivierung eine Rolle. Bei ihren Untersuchungen ergab sich nämlich, dass bei der Inkubation von zellhaltigem Plasma oder Blut mit einem Pyrogen in vitro eine fibrinolytische Aktivität auftrat. 1960 (23) kamen die gleichen Autoren zu der Vermutung, dass die Leukocyten einen stabilen Aktivator bilden und bei ihrem Zerfall abgeben können. Sie beobachteten eine Fibrinolysesteigerung, als sich im Verlaufe

einer Pyrogentherapie nach einer Stunde eine Leukopenie entwickelte. 1963 kam J. J ü r g e n s (35) bei seinen Untersuchungen über das fibrinolytische System bei Leukosen zu interessanten Ergebnissen. Zunächst konnte festgestellt werden, dass eine Erhöhung der fibrinolytischen Aktivität bei allen Leukosen vorlag, die im peripheren Blut vermehrte Leukocytenzahlen zeigten. Wie die nähere Untersuchung ergab, kam die Erhöhung der fibrinolytischen Aktivität durch Vermehrung eines Aktivators des Plasminogen zustande, während die anderen fibrinolytischen Faktoren nur uncharakteristische Veränderungen zeigten. Um die Vermutung zu bestätigen, dass der vermehrt gefundene Aktivator von den Leukocyten herstamme, wurden gereinigte Leukocytensuspensionen auf ihren Aktivatorgehalt untersucht. Die Leukocyten zeigten dabei einen über 1000 mal höheren Aktivatorgehalt als das gleiche Volumen Plasma. Berechnungen ergaben, dass der Einzelleukocyt bei unreifzelligen Leukosen nur etwa $1/5$ des Aktivators eines normalen Leukocyten enthält, während bei chronischen, reifzelligen Leukosen der Aktivatorgehalt des Einzelleukocyten den Normalwerten entspricht. Freies Plasmin wurde sowohl im Plasma, als auch in den Leukocyten nur in sehr geringen Mengen gefunden.

Auf Grund dieser Untersuchungen können die Leukocyten als Bildungsstätte eines Aktivators angesehen werden, der bei raschem Anstieg der Leukocytenzahl ebenso wie auch bei schnellem Abfall ins Plasma abgegeben wird. Obwohl der Einzelleukocyt bei akuten Leukosen - als Zeichen seiner funktionellen Minderwertigkeit - weniger Aktivator enthält als ein normaler Leukocyt, ist die Gesamtmenge an Aktivator durch die Erhöhung der Leuko-

cytenzahlen doch vermehrt. Der bisher in der Literatur als Blutaktivator beschriebene Aktivator ist somit - wie die Fibrinokinasen aus anderen Geweben - zellulären Ursprungs.

Interessant ist ein Vergleich der unreifen leukämischen Leukocyten und ihr Einfluß auf das fibrinolytische System mit dem Verhalten von verschiedenen Tumoren, besonders dem Prostata-Ca. Diese unreifzelligen Tumore zeichnen sich durch eine hohe fibrinolytische Aktivität aus, die bei operativem Eingehen zu einer schweren hämorrhagischen Diathese führen kann. Die Fibrinolysesteigerung ist hier zweifellos auf Gewebeaktivatoren des Tumorgewebes zurückzuführen. Über den Aktivierungsmechanismus und den Gehalt der Einzel-Tumorzelle an Fibrinokinase herrscht jedoch heute noch Unklarheit

Auf dem Gebiet der Fibrinolyseforschung existieren sehr viele Untersuchungsmethoden. Neben groben Untersuchungen, die nur das Auflösen eines Blutkoagulums im Reagenzglas beobachten, gibt es solche, die die Fibrinolyse am Auflösen eines feinen Fibrinfilms bestimmen. J. J ü r g e n s (35) wählte zur genaueren Bestimmung einzelner Faktoren eine Caseinmethode an (s.S. 31), bei der man sich die caseinolytische Fähigkeit des Plasmins zunutze macht. Obwohl alle diese Methoden an sich gute Ergebnisse liefern, ist es doch sehr schwer, die Resultate verschiedener Untersuchungen miteinander zu vergleichen und zu koordinieren.

Die vorliegende Arbeit, deren Aufgabe es ist, die von J. J ü r g e n s (35) gemachten Beobachtungen nachzuprüfen, zu bestätigen und statistisch zu untermauern, enthält deshalb genau die gleichen Versuchsanordnungen und Methoden, wie sie J. J ü r g e n s anwandte. Die Arbeit beschränkt sich auf Untersuchungen über das Verhalten des fibrinolytischen Systems,

soweit es sich im Plasma von Leukämiekranken abspielt.

Praktische klinische Bedeutung erlangen die Untersuchungen insofern, als man fibrinolytische Blutungen bei Leukämie und anderen Krankheitsbildern heute mit Antifibrinolytica (z.B. Epsilon-amino-capronsäure oder Trasylol) begegnen kann. Allerdings müssen, was die praktische Anwendung dieser Medikamente angeht, noch klinische Erfahrungen gesammelt werden. Damit würde einer gefürchteten Komplikation bei akuten Leukosen und akuten Schüben chronischer Leukosen, nämlich einer rasch einsetzenden, tödlichen Blutung, die Gefährlichkeit genommen.

T H E O R E T I S C H E R T E I L =====

A) Über das fibrinolytische System

Als Fibrinolyse bezeichnet man die fermentative Spaltung von Fibringerinnseeln. Die großen Fibrinmoleküle werden dabei zu Fibrinopeptiden gespalten. Diese haben eine wesentlich geringere Molekülgröße und zeigen daher keine Vernetzung mehr.

Einige Erscheinungen der Fibrinolyse sind schon sehr lange bekannt. Bereits vor etwa 200 Jahren konnte Morgagni feststellen, dass nach plötzlichem gewaltsamem Tod das Blut der Verstorbenen ungerinnbar blieb. Am Anfang des 19. Jahrhunderts beobachtete man die Auflösung von Blutkuchen nach 12 - 24 Stunden. (Denis , 21) Der Begriff der "Fibrinolyse" geht auf Dastre (1893 , 20) zurück.

Trotz einiger wesentlicher Erkenntnisse blieb die Rolle, welche die Fibrinolyse in der Physiologie spielt, noch lange unerkannt. Auch heute noch, wo wir zwar einiges mehr über die Mechanismen und die Bedeutung der Fibrinolyse wissen, herrschen große Unklarheiten.

Nachdem durch Arbeiten von Christensen und Macleod (16) und Tagnon (59) feststand, dass das proteolytische Ferment Trypsin sich deutlich von dem aktiven fibrinolytischen Ferment unterscheidet, gab man letzterem verschiedene Namen, so z. B. Fibrolase, Plasmintrypsin, Fibrinolysin etc.. Heute werden meist die Bezeichnungen "Plasmin", und entsprechend "Plasminogen"

und "Antiplasmin" gebraucht, welche von Christensen vorgeschlagen wurden.

Das fibrinolytische System stellt eine Reihe von Fermenten dar, die in einem komplizierten Mechanismus einander aktivieren oder hemmen können. Bis zur Entstehung des aktiven fibrinolytischen Ferments sind demnach mehrere Reaktionen notwendig, ein Vorgang, der an das Zusammenwirken der zahlreichen Gerinnungsfaktoren erinnert. Obwohl gerade in den letzten Jahren erhebliche Fortschritte auf dem Gebiet der Fibrinolyseforschung erzielt werden konnten, sind wir von einer endgültigen Klärung aller Probleme noch weit entfernt.

Im Folgenden werden die heute bekannten, wichtigsten Faktoren des fibrinolytischen Systems und ihre Wirkungsweise kurz dargestellt.

1) Plasminogen - Plasmin

Plasmin, das eigentliche fibrinolytische Ferment, ist normalerweise im Blut nicht oder nur in Spuren vorhanden. Es liegt vielmehr vor als inaktive Vorstufe, nämlich als Plasminogen. Dieses ist in der säureunlöslichen Euglobulinfraktion des Blutes enthalten (16) und hat den Charakter eines Lipoproteids (54). Plasminogenpräparate sind relativ leicht herzustellen durch Säurefällung (15) oder durch

Zugabe von Ammoniumsulfat zu Plasma oder Serum (2).

A s t r u p und P e r m i n (3) kamen bei Experimenten, bei denen das im Rinderfibrinogen enthaltene Plasminogen aktiviert werden sollte, zu der Vermutung, dass es beim Menschen zwei Plasminogenarten gebe. Sie begründeten ihre Auffassung durch ihre Versuchsergebnisse, bei denen sich zeigte, dass Rinderfibrinogen zwar durch einen Gewebeaktivator aktiviert werden konnte, durch Streptokinase dagegen nicht. Menschliches Plasminogen wurde durch diese Stoffe zu Plasmin umgewandelt. Diese Ergebnisse konnten die Autoren nur so deuten, dass beim Menschen zwei Plasminogenarten existierten, von denen die eine durch Gewebeaktivator, die andere durch Streptokinase aktivierbar war.

Erst im Jahre 1953 wurde durch M ü l l e r t z (46) und M ü l l e r t z und L a s s e n (47) die Unterschiedlichkeit zwischen der Wirkung von Fibrinokinase und Streptokinase aufgedeckt. Der Unterschied liegt darin, dass der Gewebeaktivator direkt auf Plasminogen einwirkt, während die Streptokinase die Umwandlung eines in der Globulinfraction des menschlichen Blutes enthaltenen Proaktivators zu einem Aktivator bewirkt, welcher dann seinerseits die Plasminogenaktivierung vornimmt. Die irrige Annahme, über die Existenz zweier Plasminogenarten beruhte darauf, dass Rinderfibrinogen keinen Proaktivator enthält, wohl aber menschliche Fibrinogenpräparate.

Die Aktivierung des Plasmingens zu Plasmin erfolgt schneller als die Inaktivierung des Plasmins durch Inhibitoren. Daher bleibt Plasmin während dieser Zeitdifferenz im Blut aktiv (25) .

Viele chemische Eigenschaften des aktiven fibrinolytischen Fermentes Plasmin sind heute bekannt. Es ist ein Euglobulin und ist in der Cohn'schen Fraktion III/3 enthalten. (50) Außerdem ist es säureunbeständig, löslich in physiologischer Kochsalzlösung, unlöslich dagegen in aqua dest.. Plasmin wirkt nicht nur auf Fibrin ein, sondern ist auch in der Lage, Fibrinogen, Gelatine und Casein zu zerstören. Trotzdem unterscheidet es sich deutlich vom Trypsin, vor allem durch seine Adsorption an Fibrin, seine spezifische Aktivierbarkeit und Hemmbarkeit und durch ein anderes pH-Wirkungsoptimum als Trypsin (16) (59) (44).

Plasmin und Plasminogen können heute isoliert, in sehr reiner Form dargestellt werden (38) (39) .

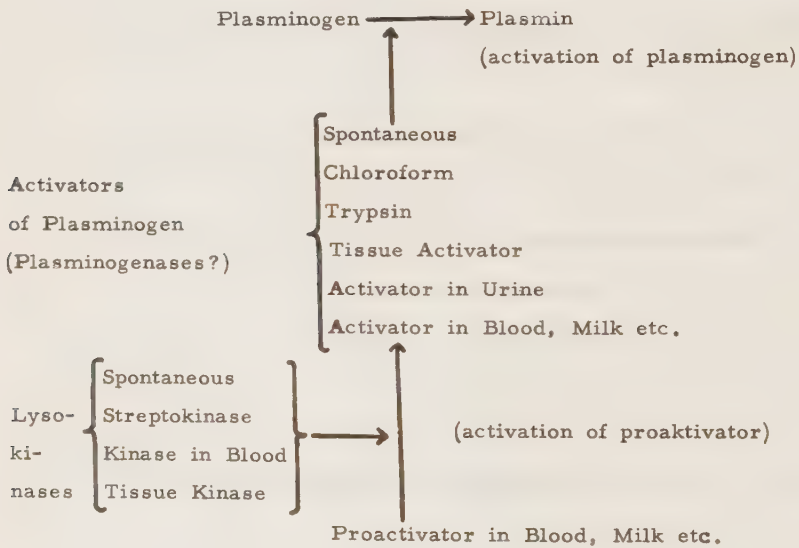
Die Plasminogenbestimmung in vitro macht man nach vollständiger Aktivierung indirekt durch Plasminbestimmung. Die Plasminaktivität bestimmt man an Hand von Verdauungstests mit Fibrin, Gelatine oder Casein.

2) Die Aktivierung des fibrinolytischen Systems

Zur Auslösung der Fibrinolyse muß das inaktive Plasminogen im Blut aktiviert werden. Dieser Vorgang, bei dem also aktives Plasmin entsteht, kann auf einer Vermehrung von Aktivatoren oder einer Verminderung von Inhibitoren beruhen. Die Umwandlung

von Plasminogen zu Plasmin kann einmal erfolgen unter dem Einfluß von kompletten Aktivatoren, wie z.B. Fibrinokinase, welche direkt auf Plasminogen einwirken. Andererseits kann auch ein Proaktivator erst zum kompletten Aktivator ergänzt werden, wie es bei der Aktivierung durch Lysokinasen der Fall ist (2) (47) (34) .

A s t r u p (2) hat diese Vorstellung in einem Schema wiedergegeben, welches nachfolgend abgebildet ist:



Die vielseitigen Aktivierungsmöglichkeiten sollen im Folgenden kurz besprochen werden.

a. Die Aktivierung in vitro

Schon seit über 60 Jahren ist bekannt, dass organische Lösungsmittel, von denen vor allem Äther und Chloroform verwendet wurden, im Serum eine proteolytische Aktivität hervorrufen können. Doyon (24) fand aber gleichzeitig, dass die Wirkung des Chloroforms aufgehoben wurde, wenn man unbehandeltes Serum dazugab. Nach Untersuchungen von Dale und Walpole (19) wird die im Serum normalerweise vorhandene antiproteolytische Kraft durch Chloroform aufgehoben. Christensen (17) stellt sich die Wirkungsweise des Chloroforms und der anderen organischen Lösungsmittel so vor, dass diese von dem Lipoprotein Plasminogen (5+) den Lipidanteil abspalten oder zerstören. Der Aktivierungsprozess setzt dann nach Abspaltung dieses hemmenden Anteils ein.

Die Aktivierungsfähigkeit verschiedener Proteasen wurde 1952 von Kocholaty, Ellis und Jensen (40) untersucht. Dabei fanden die Autoren, dass Trypsin und Plasmin sowohl Rinderplasminogen als auch menschliches Plasminogen zu aktivieren vermögen. Astrup und Sternborff (5) konnten jedoch diese Fähigkeit beim Plasmin nicht feststellen; die Aktivierung mit Trypsin gelang ihnen auch.

Biggs und MacFarlane (13) fanden, dass durch einfache Verdünnung die Fibrinolyse gesteigert werden kann. Sie vermuten ein Zurückdrängen der Inhibitoren als Ursache.

b. Die Aktivierung durch Körperflüssigkeiten

Verschiedene Körperflüssigkeiten besitzen Fibrinolyse steigernde Faktoren. Sie haben die Aufgabe, den Organismus vor Gerinnselbildung und Verstopfung in den sekretorischen Ausführungsgängen und den ableitenden Harnwegen zu schützen. Nachdem die fibrinolytische Kraft des Urins schon einige Jahre bekannt war, stellte man fest, dass nicht aktives Plasmin im Urin vorhanden ist, sondern ein Aktivator des Plasminogens (63). 1952 ging aus den Untersuchungen von A s t r u p und S t e r n d o r f f (4) hervor, dass dieser als "Urokinase" bezeichnete Aktivator im Gegensatz zum Gewebeaktivator wasserlöslich ist, ferner dass er säurelabil und stabil gegen alkalische Reaktion ist. Außerdem ist er thermolabil, was A s t r u p und S t e r n d o r f f dadurch nachwiesen, dass bei erhitzten Fibrinplatten fast keine Aktivität feststellbar war, während normale Standardplatten eine hohe Aktivität zeigten.

In der Folgezeit wurden einige andere Körperflüssigkeiten auf ihren Einfluß auf das fibrinolytische System untersucht. Man konnte nachweisen, dass in manchen dieser Flüssigkeiten außer dem Aktivator des Plasmins noch ein Proaktivator vorkommt. Solche Doppel-Aktivator-Systeme konnten in Milch (6), Speichel (1), Tränen (58) und Sperma (36) gefunden werden.

c. Die Aktivierung durch Gewebeaktivatoren

Die Tatsache, dass in Geweben proteolytische Kräfte vorhanden sind, ist schon seit 60 Jahren durch zahlreiche Veröffentlichungen bekannt. A s t r u p und seine Mitarbeiter fanden bei Arbeiten mit Gewebekulturen, dass verschiedene Gewebe die Fähigkeit haben, das fibrinolytische System des Blutes zu aktivieren. Sie vermuteten, dass die verschiedenen Gewebearten einen Stoff freisetzen, der zusammen mit einem Enzym-Vorläufer im Blut ein aktives fibrinolytisches Ferment ergibt (3) (7) (8) (9).

Zur Untersuchung von fibrinolytischer Aktivität wurde die Fibrin - Platten - Methode entwickelt (10). Diese Methode beruht auf folgendem Prinzip: Man misst die fibrinolytische Aktivität an der Größe eines Lysehofes, der auf einem Fibrinfil entsteht, welcher in einer Petrischale durch Ausfällung von Fibrin mittels eines Thrombinpräparates gebildet wird.

Bei den Untersuchungen zeigte es sich, dass verschiedene Tierarten auf verschiedene Gewebearten einen verschieden hohen Gehalt an Gewebeaktivator haben. Durch einen besonders hohen Aktivatorgehalt zeichnen sich beim Menschen Lunge, Herz, Gehirn und Prostata aus. (50, 34) Den gefundenen Aktivator aus den Geweben nannte man "Fibrinokinase".

A s t r u p (11) glaubt, dass die Fibrinokinasewirkung darauf beruht, dass sie vom Plasminogen einen Inhibitor entfernt, wobei

dann aktives Plasmin entsteht. Dieser Vorgang würde der Spontanaktivierung oder der Aktivierung durch Chloroform entsprechen.

Andererseits könnte die Fibrinokinase auch mit Plasminogen eine Verbindung eingehen, welche ihrerseits Plasmin erzeugt.

Die Fibrinokinase wird auch in verschiedenen Tumorgeweben (3) gefunden. Vor allem im Prostata-Ca ist der Gehalt an diesem Gewebeaktivator so groß, dass durch nekrotischen Zerfall oder bei operativem Angehen des Tumors die Fibrinolyse erheblich gesteigert werden kann und es zu einer lokalen hämorrhagischen Diathese kommt (34) .

Wie bereits einleitend erwähnt, glauben Deutsch (22) (23) und J ü r g e n s (35) an die Existenz eines weiteren zellulären Aktivators. Dieser soll ihrer Ansicht nach von den Leukocyten gebildet und dann an das Plasma abgegeben werden können. Zur Klärung dieser Frage soll die vorliegende Arbeit beitragen.

d. Die Aktivierung durch Lysokinasen

Bestimmte beta-hämolytische Streptokokkenstämme entwickeln gegenüber menschlichen Blutgerinnseln eine deutliche fibrinolytische Aktivität. Dies entdeckten schon 1933 T i l l e t und G a r n e r (60), die jedoch annahmen, diese Bakterien seien in der Lage, mit ihren Toxinen

direkt auf Fibrin einzuwirken. Sie nannten die Streptokinase also "Fibrinolysin".

Nachdem Milstone 1941 (44) für das Zustandekommen fibrinolytischer Aktivität durch Streptokokkenfiltrate einen zusätzlichen Faktor im menschlichen Blut gefordert hatte, den er "lytic factor" nannte, hielten auch Christensen und Macleod (16) sowie Astrup und Permin (3) die Streptokinase für einen direkten Plasminogenaktivator.

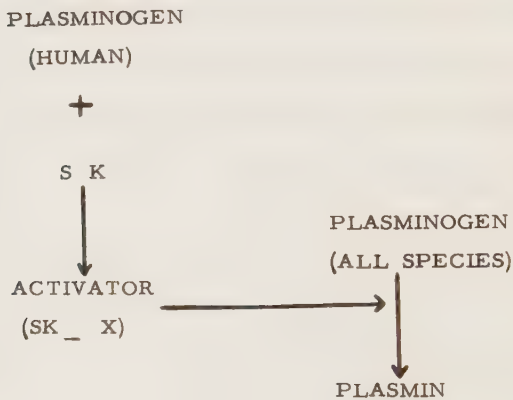
Erst 1953 gelang es durch Untersuchungen von Müllertz (45) und Müllertz und Lassen (47), die Wirkungsweise der Streptokinase aufzuklären. Während man 1948 noch vermutet, hatte, es gebe zwei Plasminogenarten, konnte man nun nachweisen, dass in menschlichem Serum ein Proaktivator enthalten ist, welcher durch die Streptokinase zu aktivem Plasminogenaktivator komplettiert wird.

Bei schwerer Sepsis und Septicopyämie kann es demzufolge zu einer generalisierten Aktivierung des fibrinolytischen Systems kommen, aus welcher schwere Blutungen resultieren (34).

Mit Staphylokinase, einem Staphylokokkentoxin, konnte man im Blut von Hunden einen entsprechenden Mechanismus feststellen (43).

Kline und Fishman (37) stellten 1957 die Existenz des Proaktivators wieder in Frage. Nach ihren Untersuchungen sind Proaktivator und menschliches Plasminogen identisch. Wie folgendes Schema (37) zeigen soll, reagieren Streptokinase und Plasminogen

stöchiometrisch miteinander und bilden so den Aktivator, der dann in der Lage ist, die Umwandlung von weiterem Plasminogen - nicht nur menschlichem - zu Plasmin zu katalysieren.



Die Theorie von Müllertz wird jedoch in der Fachliteratur beibehalten, weil sich alle Vorgänge der Fibrinolyse ihr widerspruchslos unterordnen lassen.

e. Die Spontanaktivität

Das Blut zeigt normalerweise fast keine fibrinolytische Aktivität, da freies Plasmin nur in Spuren vorliegt.

Unter bestimmten Bedingungen jedoch kann eine hohe Aktivität auftreten, nämlich bei plötzlichem gewaltsamem Tod gesunder Menschen. Y u d i n (64) konnte als erster beschreiben, wie bei Leichenblutübertragungen postmortal entnommenes Blut nach der Gerinnung wieder flüssig wurde. H a l s e (30) untersuchte dieses Problem experimentell, indem er Katzen und Kaninchen durch Strangulation und Ertränken schnell tötete. Danach konnte er im Blut eine erhöhte fibrinolytische Aktivität feststellen.

Eine Steigerung der Fibrinolyse beobachteten M a c F a r l a n e und seine Mitarbeiter (14) nach Adrenalininjektionen. Körperliche und seelische Alarmzustände zeichnen sich ebenfalls durch eine erhöhte fibrinolytische Aktivität aus. Diese wurde darauf hin auf eine erhöhte Adrenalinausschüttung zurückgeführt. Die Wirkungsweise des Adrenalins ist jedoch noch unklar, da es in vitro keinerlei Wirkung zeigt.

Die Fibrinolysesteigerung bei den erwähnten Alarmzuständen ist von mehreren Autoren beschrieben worden. So konnte man eine Aktivierung feststellen bei Fliegeralarm, vor und nach Operationen, bei schwerer körperlicher Arbeit sowie bei Examensangst. (51)

Die eigentliche Ursache der Spontanaktivität sind noch unbekannt. Viele Autoren sind jedoch der Meinung, dass für die Auslösung zelluläre Lysokinasen verantwortlich sind, die ähnlich wie Streptokinase auf einen Proaktivator einwirken. (61) (2) (45) (34).

3)

Die Hemmung durch Inhibitoren

Ein derart wichtiges physiologisches System wie das der Fibrinolyse wäre nicht vorstellbar, wenn den vielseitigen Aktivierungsmöglichkeiten nicht auch hemmende Einflüsse gegenüberstünden. Die Inhibitoren, welche im Wettstreit mit den Aktivatoren das Ausmaß der Fibrinolyse mitbestimmen, stellen in der Tat ein kompliziertes System dar, von dessen vollständiger Erschließung wir noch weit entfernt sind.

Der bekannteste Inhibitor ist wohl das Antifibrinolysin, welches spezifisch gegen das fibrinolytische Ferment gerichtet ist.

C h r i s t e n s e n und M a c L e o d (16) kamen bei ihren Untersuchungen zu dem Ergebnis, dass das Antiplasmin in der Albuminfraktion des menschlichen Plasmas enthalten ist. Ein hoher Gehalt an Antiplasmin kommt in menschlichem Leber- und Milzgewebe vor. Die Höhe des Antiplasminspiegels im Blut kann nach Ansicht von U n g a r und D a m g a a r d (61) durch ACTH und Cortison reguliert werden, wobei auch die Milz eine besondere Rolle spielt.

A s t r u p (11) fand bei der Forschung nach Inhibitoren heraus, dass Rinderlunge eine antitryptische und antifibrinolytische Kraft besitzt. Er nannte diesen Inhibitor "Pulmin", nachdem er zeigen konnte, dass diese hemmende Wirkung nicht auf dem Heparin beruhte, welches ebenfalls in Rinderlunge in großer Menge zu finden ist.

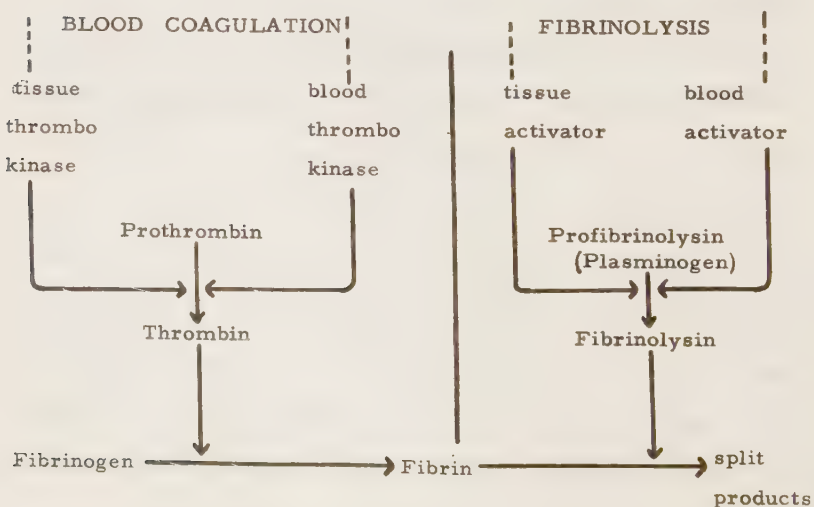
Einen Inhibitor, der speziell gegen die Streptokinase gerichtet ist, stellt die Antistreptokinase dar. Sie findet sich im Blut und zeigt einen Anstieg nach Streptokokken-Infektionen, wodurch sie einer zu starken Aktivierung des fibrinolytischen Systems durch das Streptokokkentoxin entgegenwirkt (34) (35) .

Von großer Bedeutung für die Wirkung der Inhibitoren ist die Adsorption der Aktivatoren und der Plasmins an Fibrin, nicht jedoch an Fibrinogen. Das hat zur Folge, dass Fibrin bei einer Steigerung der fibrinolytischen Aktivität zuerst abgebaut wird, da infolge der Adsorption der Aktivatoren sehr große Mengen von Inhibitoren notwendig wären, um die Lyse zu unterbinden. Erst bei sehr großer Fibrinolysesteigerung wird Fibrinogen angegriffen, denn hier kann eine normale Hemmung der lytischen Fermente vor sich gehen (2) .

Obwohl über das Gebiet der Fibrinolysehemmung schon zahlreiche Einzelheiten bekannt sind, bleiben bis heute noch viele Probleme offen.

B) Die physiologische Bedeutung der Fibrinolyse

Lange Zeit hat man die Bedeutung der Fibrinolyse nicht erkannt, was wohl damit zusammenhängt, dass die Fibrinolyse erst nach der Gerinnung einsetzt und somit etwas abseits des Interesses lag. Die Untersuchungen, die vor allem in den letzten 20 Jahren angestellt wurden, konnten zwar keine vollkommene Klärung aller Probleme auf diesem Gebiet bringen, zeigten aber doch, dass es sich hier um einen fundamentalen Prozess der Physiologie handelt. (12) Das fibrinolytische System mit seinen Fermentvorstufen und Fermentaktivatoren zeigt eine auffallende Ähnlichkeit mit dem Fermentsystem der Blutgerinnung. K o l l e r (41) hat dies sehr anschaulich dargestellt:

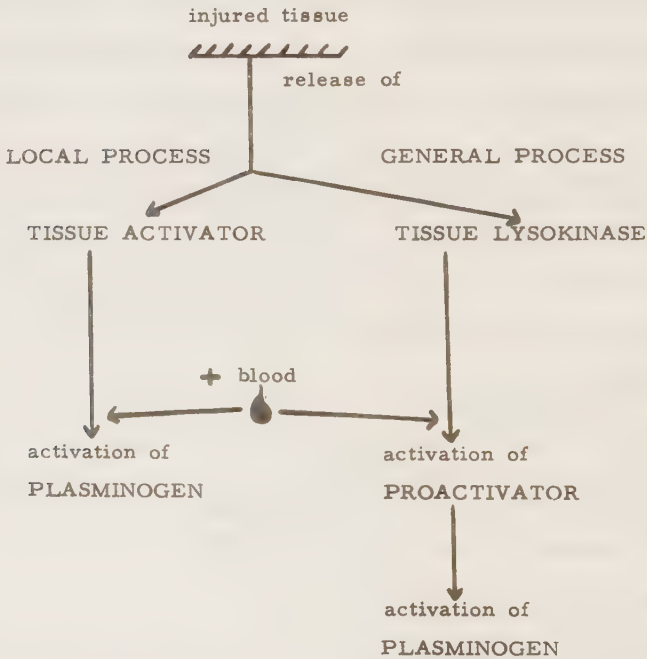


Die Beseitigung von thrombotischem Material hielt man lange Zeit für die einzige Aufgabe des fibrinolytischen Systems. Heute wissen wir, dass zur Aufrechterhaltung der normalen Körperfunktionen ein intaktes fibrinolytisches System unbedingt erforderlich ist, denn sowohl eine übermäßige Aktivierung der Fibrinolyse, als auch ihr Erliegen haben bedeutsame Folgen: im ersteren Falle kommt es zu einer schweren hämorrhagischen Diathese, welcher der Arzt oft hilflos gegenübersteht; das Erliegen der Fibrinolyse dagegen bedeutet Verstopfung von Gefäßen und Ausführungsgängen, sowie Verklebungen und Schwartenbildung an den serösen Häuten.

Die Auslösung der fibrinolytischen Aktivität kann auf zwei Wegen erfolgen (A S T R U P (2)). Einmal wird das Plasminogen direkt aktiviert durch einen Stoff, der von verletztem Gewebe abgegeben wird, nämlich die Fibrinokinase. Dieser Gewebe-Aktivator ist unlöslich. Das hat zur Folge, dass der lytische Prozesse streng lokal begrenzt bleibt. Die Bedeutung dieses Vorganges liegt darin, dass eine zu große Ausbreitung der Gerinnung von geschädigten Gefäßen verhindert wird, und später der lokale Thrombus bei der Heilung der Wunde aufgelöst wird.

Der zweite Mechanismus führt zu einer generalisierten Aktivierung der Fibrinolyse. Ein im Blut vorhandener Proaktivator wird aktiviert durch eine lösliche Gewebe-Lysokinase.

Der entstehende lösliche Aktivator kann nun schnell mit dem Blutstrom in alle Organe gebracht werden und so überall plötzlich eine Plasminogen-Umwandlung in Plasmin katalysieren. Das folgende Schema von A s t r u p (2) verdeutlicht das Dargestellte:



Die wichtigste und bekannteste Rolle spielt die Fibrinolyse im Blut. Hier sorgt sie dafür, dass die Gerinnung besonders bei

kleinen Verletzungen nicht über ihr Ziel hinausschießt. Vorhandene Thromben werden entweder aufgelöst, oder, wenn sie größer sind, organisiert, wobei die Fibrinolyse eine unterstützende Rolle spielt.

Von entscheidender Bedeutung sind auch die fibrinolytischen Vorgänge an den serösen Auskleidungen der großen Körperhöhlen. H a l s e (30) konnte mit seinen Untersuchungen zeigen, dass alle diese serösen Häute normalerweise einen hohen Gehalt an fibrinolytischen Fermenten besitzen. Dadurch sind sie in der Lage, physiologischerweise ausgeschwitztes Fibrin zu verflüssigen. Sie verhindern damit, dass es, wie unter pathologischen Bedingungen, zu fibrinösen Verklebungen kommt, welche später nach bindegewebiger Umwandlung funktionell sehr ungünstige Vernarbungen darstellen. So kommt es auch bei der Pericarditis, Pleuritis und Peritonitis fibrinosa auf ein funktionstüchtiges fibrinolytisches System an, wenn eine Restitutio ad integrum erfolgen soll.

Viele Körperflüssigkeiten werden durch sehr enge Kanäle ausgeschieden. Diese Flüssigkeiten, z.B. Tränen, Speichel, Milch etc., enthalten fibrinolytische Fermente, die durch rechtzeitiges Auflösen von entzündlichen oder traumatischen Gerinnseln eine Verstopfung der Ausführungsgänge verhindern können. Der Urin, dessen fibrinolytische Kraft zuerst festgestellt und untersucht wurde, kann solche Gerinnsel in den ableitenden Harnwegen beseitigen und damit sehr ernste Komplikationen verhüten.

Das fibrinolytische System unterliegt sowohl hormonellen als auch vegetativen Regulationen. So zeigt es bei der vegetativen Gesamtschaltung (H o f f , 32) in der ersten Phase, der "sympathicotonen Kampfphase" eine deutliche Steigerung seiner Aktivität. In der folgenden "parasympathicotonen Erholungsphase" findet man eine Dämpfung der Fibrinolyse infolge eines Anstieges der Inhibitoren. Die Hemmungssteigerung ist abhängig von einem Milzfaktor, dem Splenin A, während ein zweiter Faktor, das Splenin B, die Inhibitoren wieder senken kann. U n g a r und D a m g a a r d (61) zeigten, dass die Höhe des Hemmkörpertiters durch ACTH und Cortison reguliert werden kann.

Große praktische Bedeutung haben Blutungen, die auf einer generalisierten, extrem gesteigerten Fibrinolyse beruhen. Solche Fälle sind bekannt aus der Geburtshilfe bei verschiedenen Geburtskomplikationen sowie aus der Chirurgie bei schweren Operationen. Hierbei greifen die fibrinolytischen Fermente nicht nur geronnenes Fibrin an, sondern auch dessen Vorläufer, das Fibrinogen. Die Folge davon ist ein Fibrinogenmangel oder sogar eine Afibrinogenämie mit vollständiger Ungerinnbarkeit des Blutes.

Die Therapie bei solchen Blutungen kann nur dann Erfolg versprechen, wenn die auslösende Ursache rechtzeitig erkannt und beseitigt wird. Erst dann kann man durch Fibrinogenersatz und Antifibrinolytica (z.B. Epsilonaminokapronsäure, die speziell gegen Plasmin gerichtet ist) die Blutung beherrschen.

Viele Versuche wurden unternommen, im Sinne einer Steigerung in das fibrinolytische System einzugreifen. Eine lokale Aktivierung in den großen Körperhöhlen wurde mit gutem Erfolg durchgeführt. Man konnte die Verklebungen lösen und Exsudate sowie größere Hämatome verflüssigen.

Ungleich schwieriger ist die Aktivierung der Fibrinolyse im Blut in vivo, obwohl ihre Anwendung hier von eminent großer therapeutischer Bedeutung wäre. Man denke nur an die schweren Krankheitsbilder von Myocardinfarkten, cerebralen Gefäßverschlüssen, Thrombosen der großen peripheren Arterien oder der Zentralvene der Retina. Die Antikoagulantientherapie führt hierbei nur zu einem Wachstumsstop der Gerinnsel. Obwohl die so behandelten Thromben mit der Zeit fibrinolytisch verdaut werden können, geschieht dies in den meisten Fällen zu spät, nachdem sich die Folgen der Thrombose bereits manifestiert haben. Deshalb versucht man, die Fibrinolyse intravasal zu aktivieren. (51)

Durch bakterielle Pyrogene erzielte man bei den Patienten Fieber, wobei sich gleichzeitig eine erhebliche fibrinolytische Aktivität einstellte. Ähnlich wie bei dieser Fiebertherapie kam es zu einer unspezifischen Aktivierung der Fibrinolyse nach Injectionen von Nicotinsäure. Streptokinasepräparate, die heute in wesentlich reinerer Form vorliegen als früher und damit weniger toxisch sind, eignen sich ebenfalls für eine solche Therapie. Außerdem versuchte man, Plasmin, das durch Aktivierung von Plasminogen mittels Urin oder Streptokinase gewonnen wurde, direkt zu verwenden.

Vor allem in den USA konnte man mit solchen Plasmin-Infusionen bereits beachtliche Erfolge erzielen.

Alle diese Methoden haben noch erhebliche Nachteile, sei es, dass die Wirkung zu kurz andauert, dass die Nebenwirkungen zu groß sind, dass nicht alle Patienten darauf ansprechen oder dass die Wirkung nach mehrmaliger Anwendung durch Inhibitoren-Neubildung rasch nachläßt. Trotz dieser Mängel, die es noch zu überwinden gilt, läßt es sich vermuten und hoffen, dass man in Zukunft früher oder später mit Hilfe der Fibrinolysetherapie den thromboembolischen Erkrankungen sicher entgegentreten kann.

EXPERIMENTELLER TEIL

- - - - -

A) Angewandte Methoden zur Untersuchung
des fibrinolytischen Systems

Die Untersuchung der fibrinolytischen Aktivität und die Abgrenzung einzelner Faktoren des fibrinolytischen Systems erfolge durch eine Modifikation der Casein-Methode von R e m m e r t und C o h e n (52), F e r g u s o n (26) und S g o u r i s (56), welche J. J ü r g e n s bei seinen Untersuchungen anwandte. Es wurde Wert darauf gelegt, die Methoden von J. J ü r g e n s genau zu übernehmen, um die Möglichkeit zu haben, die Ergebnisse beider Untersuchungen miteinander zu vergleichen.

Die Casein-Methode beruht darauf, dass Casein ebenso wie Fibrin und Fibrinogen durch das fibrinolytische Ferment angegriffen und gespalten wird. Bei der enzymatischen Spaltung der Caseinmoleküle wird neben anderen Spaltprodukten auch der Eiweißbaustein Tyrosin frei. Die Menge an freigesetztem Tyrosin, die wir messen, entspricht quantitativ der Menge an aktivem fibrinolytischem Ferment. Das Tyrosin wird mit dem Folin-Ciocalteau-Reagenz dargestellt (33) und dann am Photometer "Eppendorf" quantitativ bestimmt. Die gefundenen Extinctionswerte werden mit Hilfe einer Eichkurve zur entsprechenden Menge an Tyrosin umgerechnet. In den Abbildungen wird die jeweilige fibrinolytische Aktivität in Tyrosin ausgedrückt, welche von 1 ml Plasma in 1 Stunde aus einer 4%-igen Caseinlösung freigesetzt werden. Bei einem Fall wurde auf Farbreaktion verzichtet und das Tyrosin direkt mit Hilfe eines Spektral-Photometers bestimmt.

Im Folgenden werden die Methoden beschrieben, wie die einzelnen

Faktoren des fibrinolytischen Systems voneinander abgegrenzt und bestimmt wurden.

I. Die Abgrenzung einzelner Faktoren

1) Aktivator und Plasmin

Den in der Euglobulinfraction enthaltenen Plaminogen-Aktivator lässt man auf Plasminogen einwirken. Dabei entsteht freies Plasmin, welches aus einer Caseinlösung eine bestimmte Menge an Tyrosin abspaltet. Da das Plasminogen im Überschuß vorhanden sein muß, Plasminogenlösungen aber recht schwierig herzustellen sind, verwendeten wir Rinderfibrinogen, welches große Mengen an Plasminogen enthält, als Plasminogenquelle. Das freiwerdende Tyrosin entspricht dann quantitativ dem Aktivatorgehalt der Euglobulinlösung. Bei dieser Bestimmung ist zu berücksichtigen, dass von dem Tyrosinbetrag eigentlich die freie fibrinolytische Aktivität abgezogen werden müsste. Unsere Untersuchungen haben jedoch ergeben, dass freies Plasmin im Blut nur in so geringem Maße vorhanden ist, dass es die Aktivatorbestimmung kaum beeinflusst und dabei vernachlässigt werden kann.

In einem sterilen Reagenzglas wird folgender Ansatz hergestellt:

- 0,25 ml Euglobulin-Pufferlösung (hergestellt aus 0,25 ml Plasma)
- 0,25 ml Rinderfibrinogen-Pufferlösung (3000 mg%)
- 0,1 ml -Puffer pH 7,6
- 0,5 ml Casein-Pufferlösung (4 %)

Der Ansatz wird 16 Stunden im Brutschrank bei 37° C bebrütet. Dann enteiweißt man mit 2,0 ml 10%-iger Trichloressigsäure und filtriert das ausgefällte Resteiweiß nach 10 Minuten ab. Als Leerwert wird der gleiche Ansatz hergestellt und ohne Bebrütung sofort enteiweißt und filtriert.

Die weitere Untersuchung des Filtrates, die für alle Bestimmungen gleich ist, wird auf Seite 35 ff beschrieben.

2) Plasminogen

Um sämtliche Plasminogen bestimmen zu können, wird das fibrinolytische System mit Hilfe von Streptokinase total aktiviert. Über den Blutaktivator wird das Plasminogen, welches sich in der Euglobulinfraktion befindet, in Plasmin übergeführt, das dann seine caseinolytische Fähigkeit ausübt. Die Menge an abgespaltenem Tyrosin entspricht dem Plasminogengehalt der Euglobulinfraktion.

Man gibt in ein steriles Reagenzglas folgenden Ansatz:

0,5 ml	Euglobulin-Pufferlösung (hergestellt aus 0,25 ml Plasma)
0,1 ml	Streptokinase-Pufferlösung (5000 E/ml)
0,5 ml	Casein-Pufferlösung (4 %)

Den Ansatz bebrütet man 1 Stunde im Brutschrank bei 37° C.

Danach wird das Rest-Casein wie unter 1) ausgefällt und abfiltriert, sowie ein entsprechender Leeransatz hergestellt. Weiteres Verfahren siehe Seite 35 ff.

3 a) Streptokinase-Resistenz (Antistreptokinase-Titer)

Die Inhibitoren, die speziell gegen Streptokinase gerichtet sind, finden sich im Plasma. Sie können die aktivierende Wirkung der Streptokinase

unterdrücken. Bei hohem Antistreptokinasetiter wird daher wenig Plasma freigesetzt und wenig Tyrosin aus der Caseinlösung abgespalten.

In ein steriles Röhrchen wird folgender Ansatz gegeben:

0,25 ml	Citrat-Plasma (1:10)
0,25 ml	Diäthylbarbitursäure-Puffer pH 7,6
0,1 ml	Streptokinase-Pufferlösung (125 E/ml)
0,5 ml	Casein-Pufferlösung (4 %)

Nach einer Bebrütung von 1 Stunde bei 37⁰ C wird wie unter 1) enteiweißt und filtriert. Der Leeransatz wird ohne Bebrütung wie der Messansatz weiterbehandelt. Weiteres Verfahren siehe Seite 35 ff.

3 b.) Inhibitor-Komplex

Der hier zu bestimmende Inhibitor-Komplex besteht hauptsächlich aus einem Anti-Aktivator und nur zu einem geringen Teil aus Anti-Plasmin. Bei der Bestimmung macht man sich zunutze, dass die Euglobulinfraktion praktisch frei ist von Inhibitoren, welche im Plasma vorhanden sind.

In einem Ansatz A wird die Euglobulinfraktion durch ein Aktivatorpräparat zu freiem Plasmin aktiviert, ein zweiter Ansatz B enthält statt der Euglobulinfraktion Citratplasma. Während in Ansatz B die Inhibitoren dem Aktivator entgegenwirken, findet man in Ansatz A infolge des Fehlens der Inhibitoren eine viel deutlichere Aktivierung der Fibrinolyse.

Die Differenz in der Plasminfreisetzung zwischen Ansatz A und Ansatz B entspricht hauptsächlich einem gegen Plasminogen-Aktivator gerichteten Hemmkörper. In geringem Maße wird auch Antiplasmin mitbestimmt, da das von uns verwendete Aktivatorpräparat auch sehr geringe Mengen Plasmin enthält.

Die Ansätze A und B werden in sterilen Reagenzgläsern hergestellt:

<u>Ansatz A:</u>	0,25 ml	Euglobulin-Pufferlösung (hergestellt aus 0,25 ml Plasma)
	0,25 ml	Rinderfibrinogen-Pufferlösung (3000 mg %)
	0,1 ml	"Actase"-Pufferlösung (3000 E/ml)
	0,5 ml	Casein-Pufferlösung (4 %)

<u>Ansatz B:</u>	0,25 ml	Citrat-Plasma (1:10)
	0,25 ml	Rinderfibrinogen-Pufferlösung (3000 mg %)
	0,1 ml	"Actase"-Pufferlösung (3000 E/ml)
	0,5 ml	Casein-Pufferlösung (4 %)

Die Ansätze werden bei 37° C eine Stunde bebrütet und wie bei 1) enteiweißt und filtriert, während bei den entsprechenden Leer-Ansätzen A und B das Resteiweiß ohne Bebrütung sofort ausgefällt und abfiltriert wird. Weiteres Verfahren siehe Seite 35 ff.

II. Die quantitative Bestimmung des Tyrosins

Von dem Filtrat, das man nach dem Abfiltrieren des Rest-Caseins bei den Bestimmungen 11, 12, 13a und 13 b erhält, gibt man

je 1 ml in ein steriles Röhrchen. Nacheinander werden folgende Reagenzien dazugegeben:

0,5 ml	NaOH (5 %)
1,0 ml	Aqua dest.
1,5 ml	Na ₂ CO ₃ (20 %)

Nach Hinzufügen des Natriumcarbonates wird der Ansatz gut geschüttelt, da sonst später Trübungen auftreten können. Nun stellt man das Tyrosin des Filtrates färberisch dar mit Hilfe von 0,5 ml Folin - Ciocalteu - Reagenz, welches man im Verhältnis 1:3 mit aqua dest. verdünnt hat. Nach 20 Minuten mißt man die Extinctionswerte der Ansätze gegen die entsprechenden Leerwerte am Photometer E p p e n d o r f bei Filter 574.

Die Relation zwischen gemessener Extinction und dem Tyrosingehalt des Ansatzes erhält man an Hand einer Eichkurve, bei deren Aufstellung bekannte Tyrosinmengen mit dem Farbreagenz dargestellt und die entsprechenden Extinctionswerte bestimmt werden:

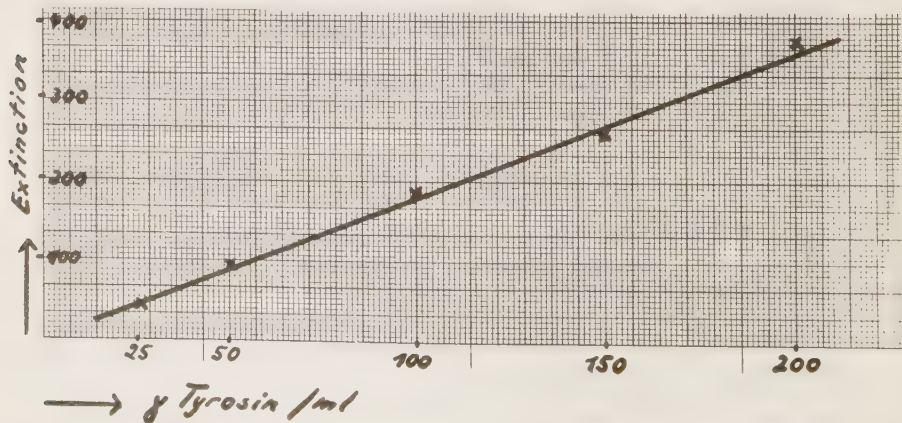


Abb. 1 Eichkurve

Aus der Abbildung ergibt sich, dass die Extinctionswerte durch 1,85 dividiert werden müssen, um die entsprechende Menge an Tyrosin zu erhalten.

Bei einem von uns untersuchten Fall wurde das Tyrosin ohne färbische Darstellung direkt spektralphotometrisch bestimmt.

III. Material und Reagenzien

1. 2,5 ml Plasma, plättchenfrei zentrifugiert aus Citratblut (1:10)
2. Rinderfibrinogen, Behringwerke AG Marburg
3. Diäthylbarbitursäure-Pufferlösung pH 7,6, Behringwerke
4. Caseinpufferlösung 4 % , pH 7,6
5. Streptokinase-Pufferlösung, hergestellt aus "Varidase"
Lederle, Cyanamid GMBH München (5000 E/ml und 125 E/ml)
6. "Actase" (3000 E/ml) aus "Actase-Human Fibrinolysin",
hergestellt von der Ortho-Research-Foudation, Raritan New Jersey, USA
7. Essigsäure 1 %
8. Aqua destillata, steril
9. Trichloressigsäure 10 %
10. NaOH 5 %
11. Na_2CO_3 20 %
12. Folin-Ciocalteau-Reagenz
13. Reagenzgläser, steril
14. Pipetten, steril

15. Paraffinierte Glasspritzen
16. Blaubandfilter
17. Heißluftsterilisator
18. Zentrifuge
19. Tiefkühltruhe
20. Brutschrank
21. pH-Meter "Beckman"
22. Photometer "Eppendorf"
23. Spektralphotometer "PMQ II", Carl Zeiss

IV. Gewinnung des Plasmas

Zur Plasmagewinnung entnimmt man das Blut vom nüchternen Patienten, damit es nicht mit Chyle versetzt ist, welche Trübungen verursacht. Man verwendet dabei paraffinierte Glasspritzen, um die Thrombocyten zu schonen. Zu 9 Teilen des entnommenen Blutes gibt man 1 Teil einer 3,8 %-igen Natriumcitratlösung. Durch Zentrifugieren dieses Citratblutes 10 Minuten lang bei 15000 U/min. wird ein plättchenfreies Plasma gewonnen, das vorsichtig abpipettiert wird.

Bei unseren Versuchen haben wir das Plasma aus methodischen Gründen stets sofort in der Tiefkühltruhe eingefroren und es dann später erst verwendet. Zwei- und mehrmaliges Einfrieren hatte ein erhebliches Absinken der fibrinolytischen Aktivität zur Folge.

V. Herstellung der Euglobulin-Pufferlösung
(nach K O W A R Z Y K und B U L U K) (42)

0,25 ml des plättchenfrei zentrifugierten Plasmas werden mit 3,75 ml aqua. dest. verdünnt. Zu diesem Ansatz gibt man 0,08 ml 1 %-iger Essigsäure. Das angesäuerte und verdünnte Plasma stellt man für zwei Stunden in den Kühlschrank. Während dieser Zeit fällt das Euglobulin flockig aus. Nun zentrifugiert man 10 Min. bei 2000 U/min.. Die Flüssigkeit gießt man zum großen Teil vorsichtig ab und läßt den Rest auf ein Filterpapier abtropfen. Die Euglobulinfraktion, die sich am Boden des Röhrchens abgesetzt hat, löst man je nach Ansatz in der entsprechenden Menge Diäthylbarbitursäure-Puffer pH 7,6 auf.

B) Die Ergebnisse der Untersuchungen
und ihre Beurteilung

Mit den beschriebenen Untersuchungsmethoden wurden zunächst an 10 Normalfällen die Normal-Bereiche der einzelnen Faktoren des fibrinolytischen Systems bestimmt. Bei 9 Patienten mit myeloischer und 13 Patienten mit lymphatischer Leukämie wurden dann die fibrinolytischen Faktoren bestimmt und mit den Normal-Bereichen verglichen.

Die Ergebnisse der Querschnittsuntersuchung der 21 Leukosen sind in den Abbildungen 2, 3, 4 und 5 dargestellt.

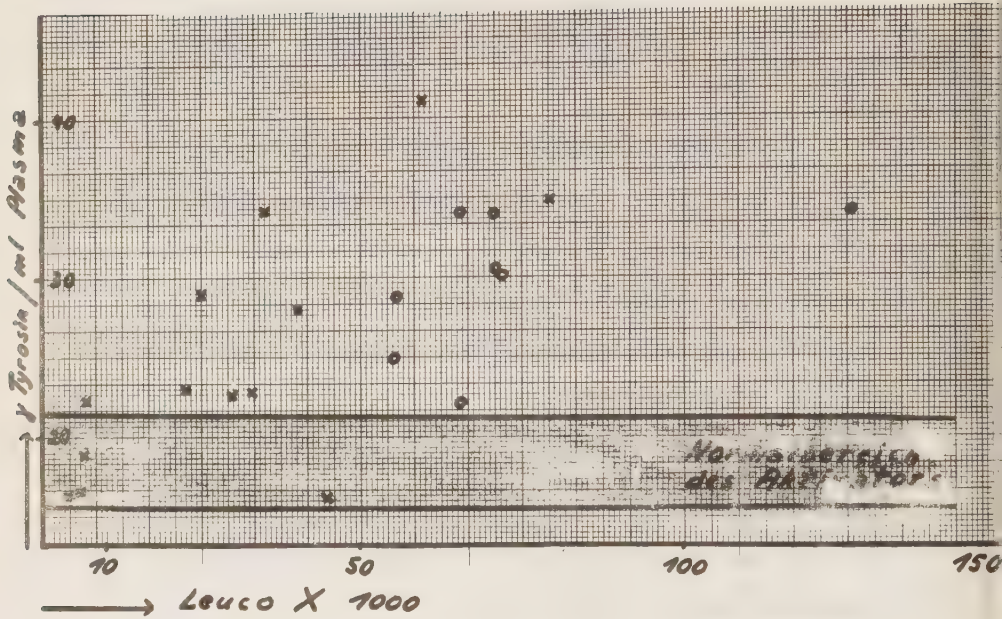


Abb. 2: Verhalten des Plasminogen-Aktivators bei 21 Leukosen im Vergleich mit der Leukocytenzahl und dem Normal-Bereich.
 o myeloische x lymphatische

In Abb. 2 sind die Aktivatorwerte von 8 myeloischen und 13 lymphatischen Leukosen, nach steigenden Leukocytenzahlen geordnet, eingezeichnet. Wie der Vergleich mit dem angegebenen Normal-Bereich des Aktivators zeigt, liegen die gefundenen Werte größtenteils darüber. Mit steigender Leukocytenzahl finden wir also auch erhöhte Aktivatorwerte. Es besteht jedoch keine strenge Abhängigkeit, da man bei relativ niedrigen Leukocytenzahlen, z.B. 35.000, wesentlich mehr Aktivator finden kann, als bei z.B. 70.000 Leukocyten. Wenn man annimmt, dass der Aktivator von den Leukocyten gebildet wird, so kann man aus der Abbildung schließen, dass der Aktivator nicht sofort,

sondern verzögert an das Blut abgegeben wird und dass er aus zerfallenden Leukocyten frei werden kann. Letzteres erklärt die bisweilen zu findenden Aktivatorwerte bei relativ niedrigen Leukocytenzahlen.

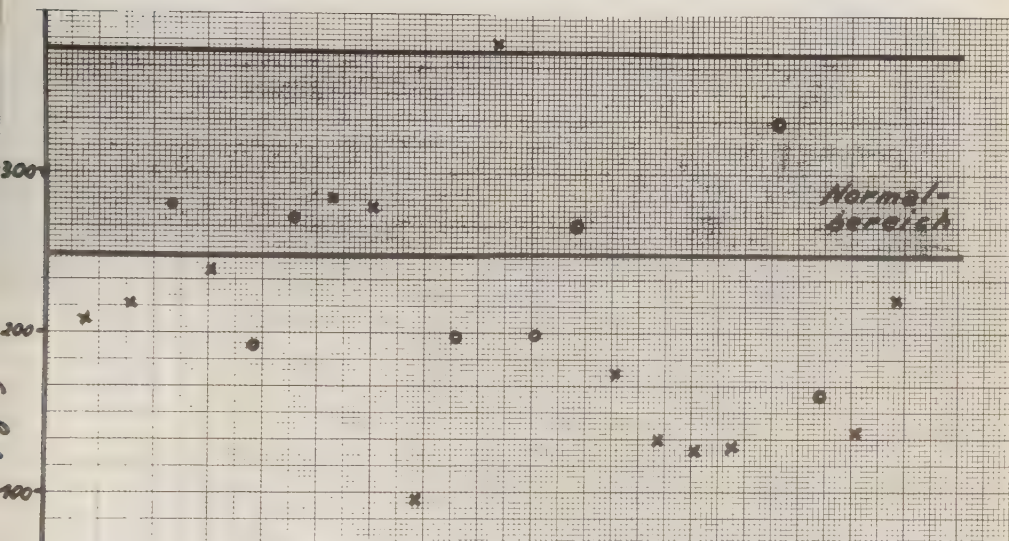


Abb. 3: Verhalten des Plasminogens bei 21 Leukosen.

o myeloische

x lymphatische

Bei den gleichen 21 Fällen liegen die Werte für Plasminogen deutlich unter dem Normal-Bereich, wie aus Abb. 3 hervorgeht. Dieses fast spiegelbildliche Verhalten von Aktivator und Plasminogen lässt sich dahingehend deuten, dass der Plasminogen-Vorrat infolge der enormen Aktivitätssteigerung aufgebraucht wird und nicht im gleichen Maße durch eine Neubildung ersetzt werden kann.

Abb. 4 zeigt zunächst einmal, dass schon bei Gesunden sehr starke

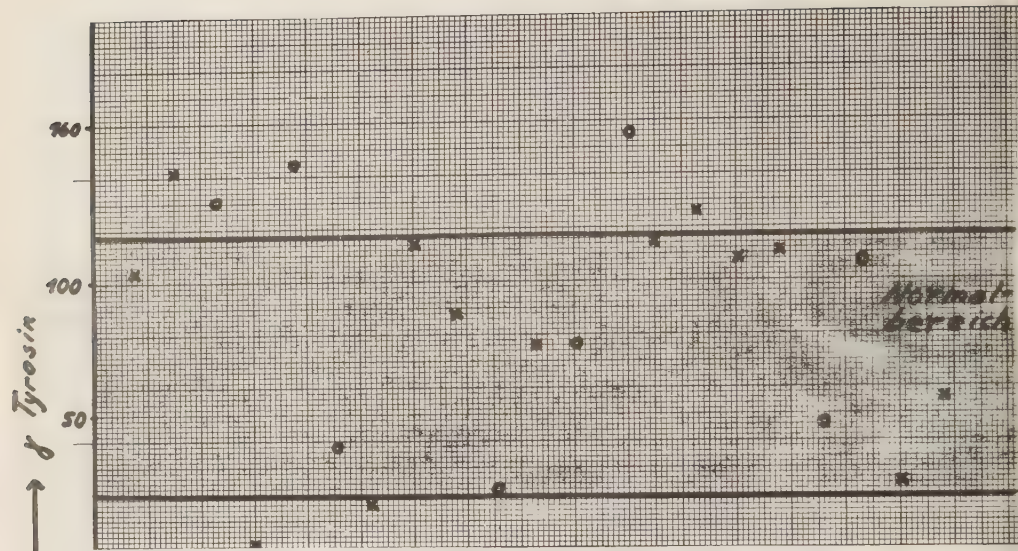


Abb. 4: Verhalten der Streptokinase-Resistenz bei 21 Leukosen

o myeloische

x lymphatische

Schwankungen der Streptokinase-Resistenz vorliegen. Auf die Zusammenhänge zwischen dem - sehr breiten - Normal-Bereich und Streptokokkeninfektionen wurde bereits im theoretischen Teil dieser Arbeit hingewiesen. Eine eindeutige Verschiebung der Streptokinase-Werte bei der Leukämie kann nicht festgestellt werden, so dass man annehmen muß, dass die Antistreptokinase mit dem Problem "Fibrinolyse und Leukämie" nichts zu tun hat.

Antiplasmin und Antiaktivator, die wir als Inhibitor-Komplex bezeichnen, sind in Abb. 5 im Vergleich mit ihrem Normal-Bereich dargestellt. Die deutliche Verminderung der Inhibitor-Werte ist erklärlich, denn es wird bei einem so starken Anstieg des

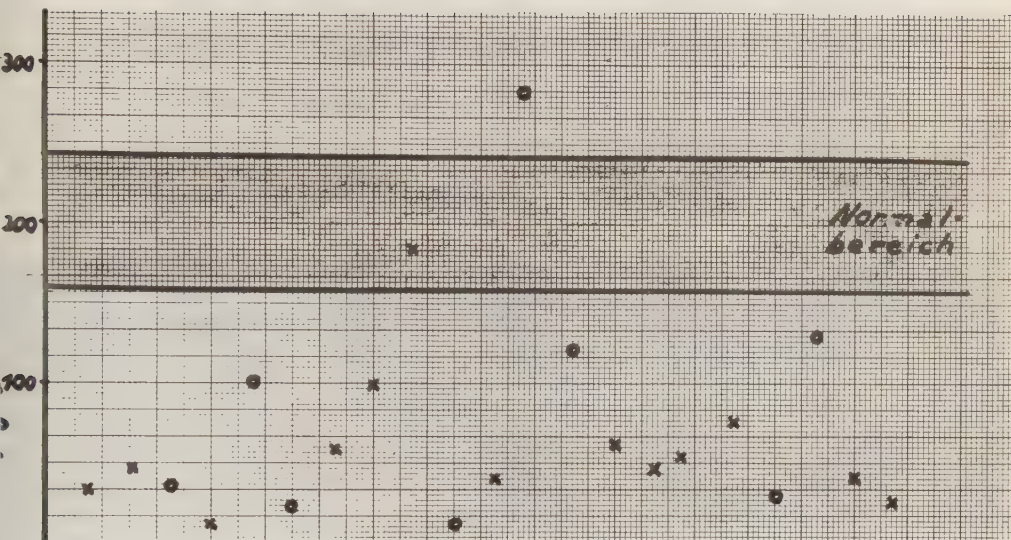


Abb. 5: Verhalten des Inhibitor-Komplexes (Antiaktivator + Anti-
plasmin) bei 21 Leukosen

o myeloische

x lymphatische

Aktivators der Antiaktivator "neutralisiert" bzw. aufgebraucht, ebenso das Antiplasmin bei der mit Plasminogen-Verbrauch (s. Abb. 3) einhergehenden Plasmin-Erhöhung.

Insgesamt lässt sich zu den Abbildungen 2 - 5 sagen , dass offensichtlich ein Unterschied zwischen myeloischer und lymphatischer Leukämie vom Gesichtspunkt der Fibrinolyse her nicht besteht.

Um einen Einblick in das Verhalten des fibrinolytischen Systems in direktem Zusammenhang bei der Leukocytenzahl und ihren Schwankungen zu erhalten, wurden bei 6 Patienten die fibrinolytischen Faktoren mehrmals hintereinander kontrolliert und mit dem gleichzeitigen Verlauf der Leukocytenzahlen verglichen. Die 6 Fälle sind im Folgenden dargestellt (Abb. 6 - 11).

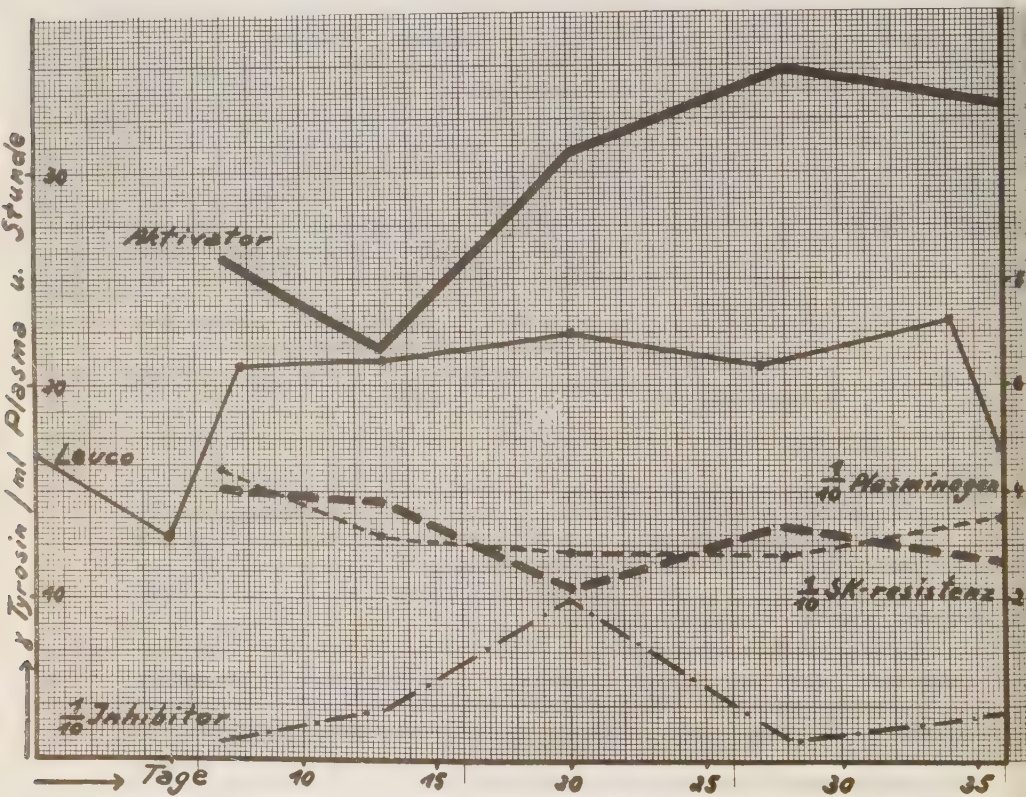


Abb. 6: Verhalten von Aktivator, Plasminogen, Inhibitorcomplex, Streptokinaseresistenz und Leukocytenzahl während einer Kontrollzeit von 29 Tagen bei einem Patienten mit chron. Lymphadenose.

Bei einem 59-jährigen Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie kam es nach Rückgang der Leukocytenzahl von 50.000 auf 30.000 zu einem plötzlichen Anstieg auf über 65.000. Wie aus Abb. 6 hervorgeht, zeigt der Aktivator einen der Leukocytenzahl entsprechenden Verlauf. Es fällt jedoch auf, dass die Aktivator-kurve gegenüber der Leukocytenkurve um etwa 8 Tage nachhinkt. Das bedeutet, dass der Aktivator, wenn er von den Leukocyten gebildet wird, erst nach einer gewissen Latenzzeit im Plasma erscheint. Das Plasminogen zeigt anfangs ein leichtes Abfallen, um dann wieder, wahrscheinlich infolge Neubildung, anzusteigen. Das Niveau von Antiaktivator und Antiplasmin liegt sehr tief - entsprechend den hohen Aktivator-Werten - , während sich die Streptokinase-Resistenz uncharakteristisch verhält.

Einen sehr ähnlichen Verlauf fanden wir bei einem 48-jährigen Patienten, ebenfalls mit chronischer lymphatischer Leukose. (Abb. 7) Der steile Leukocytenanstieg und der folgende leichte Abfall wird von der Aktivatorkurve genau nachgeahmt. Die zeitliche Verschiebung zwischen den beiden Kurven beträgt hier etwa 7 Tage. Das Plasminogen steigt nach anfänglichem Absinken wieder an, die Inhibitoren zeigen niedrigere Werte.

Um einen sehr schnellen und enormen Anstieg der Leukocytenzahl im Blut handelte es sich bei einem 40-jährigen Patienten mit einer tumorbildenden Form einer unreifzelligen myeloischen Leukose, bei welchem innerhalb von wenigen Tagen die Leukocyten von 40.000 auf über 200.000 anstiegen. (Abb. 8)

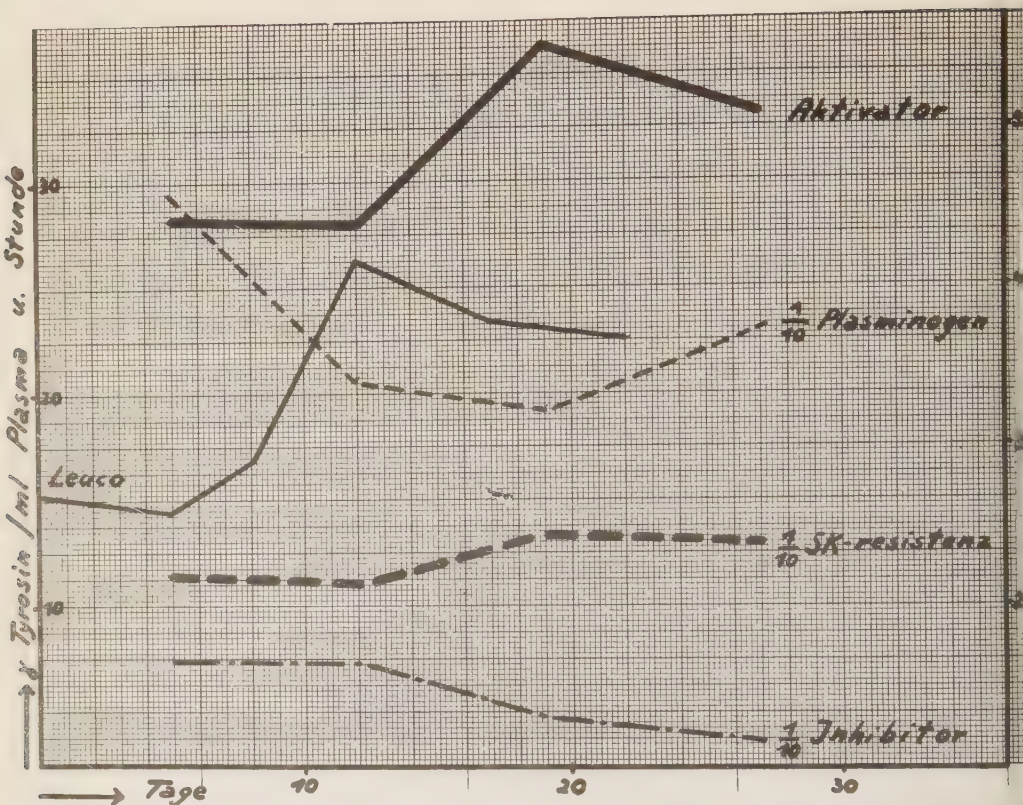


Abb. 7: Verhalten von Aktivator, Plasminogen, Inhibitor-komplex, Streptokinaseresistenz und Leukocytenzahl während einer Kontrollzeit von 23 Tagen bei einem Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie.

Der Aktivator war zunächst im Absinken, begann dann aber anzusteigen. Es ist anzunehmen, dass ein weiteres Steigen der Aktivator-Werte gefolgt wäre, wenn man nämlich die Latenz von etwa einer Woche berücksichtigt. Der Tod des Patienten ließ eine weitere Untersuchung nicht zu. Der Inhibitor-komplex zeigt extrem

niedrige Werte, die sich als "Verbrauch" der Inhibitoren durch die sehr hohe Aktivator-Aktivität deuten lassen. Diese hohe Aktivität des Aktivators bringt auch den Plasminogen-Vorrat zum Schrumpfen. In der Tat wies der Patient bei der Sektion zahlreiche fibrinolytische Blutungen an inneren Organen auf, welche die mit Plasminogenverbrauch einhergehende Plasmin-Produktion bestätigen.

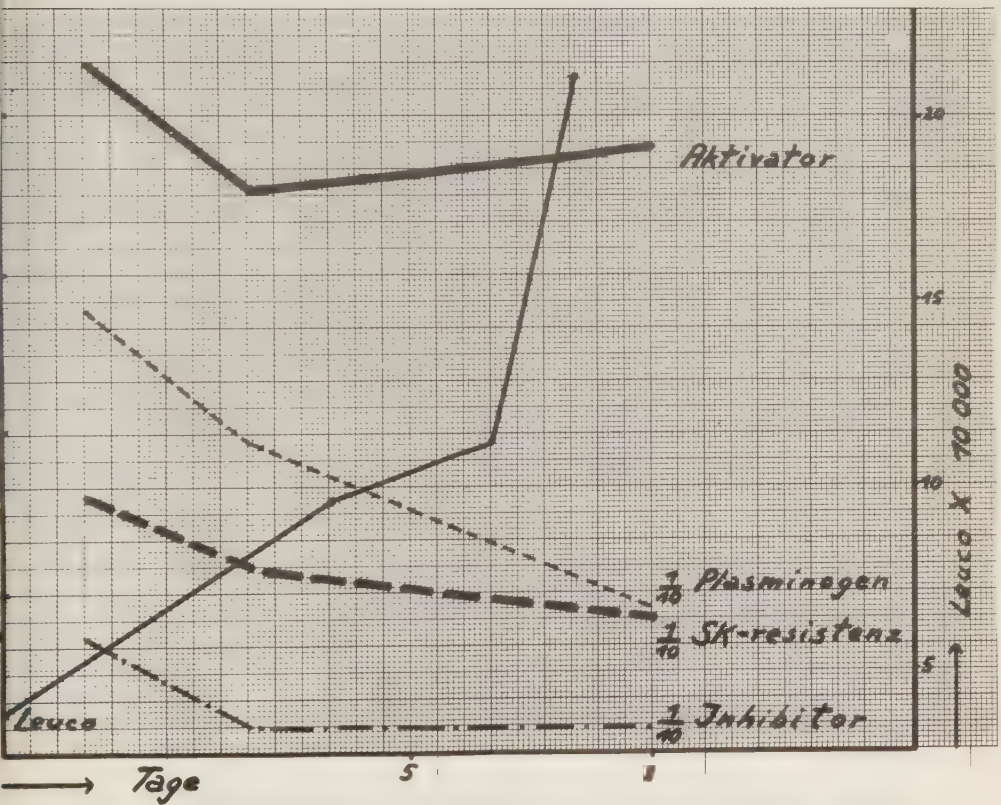


Abb. 8: Verhalten von Aktivator, Plasminogen, Inhibitorkomplex, Streptokinaseresistenz und Leukocytenzahl bei einem Patienten mit unreifzelliger myeloischer Leukämie (tumorbildende Form).

Ein 64-jähriger Patient mit unreifzelliger myeloischer Leukose befand sich während unserer Untersuchung im Stadium einer Leukocyten-Remission (Abb. 9). Zunächst sank der Aktivator parallel mit den Leukocyten ab, dann aber begann er wieder zu steigen, obwohl die Leukocyten weiter abfielen. Der Aktivator-

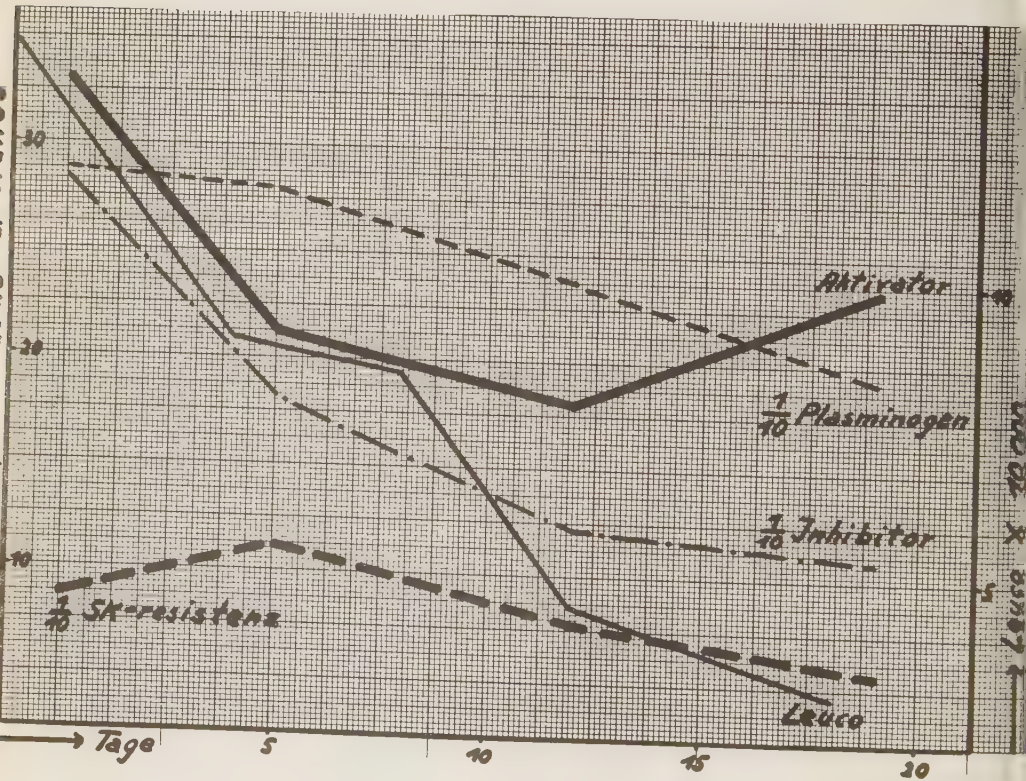


Abb. 9: Verhalten von Aktivator, Plasminogen, Inhibitorkomplex, Streptokinaseresistenz und Leukocytenzahl während einer Kontrollzeit von 19 Tagen bei einem Patienten mit ak. myel. Leukose.



Abb. 10: Verhalten von Aktivator, Plasminogen, Inhibitor-komplex, Streptokinaseresistenz und Leukocytenzahl während einer Kontrollzeit von 18 Tagen bei einem Patienten mit akuter Paramyeloblastenleukose.

anstieg könnte so gedeutet werden, dass der Aktivator aus zerfallenden Leukocyten frei wird und ins Plasma übertritt. Diese Annahme würde auch die Tatsache erklären, dass wir bei der Querschnittsuntersuchung (Abb. 2) bei relativ niedrigen Leukocytenzahlen hohe Aktivator-Werte finden konnten.

Abschließend sind noch zwei Fälle angeführt, bei denen die

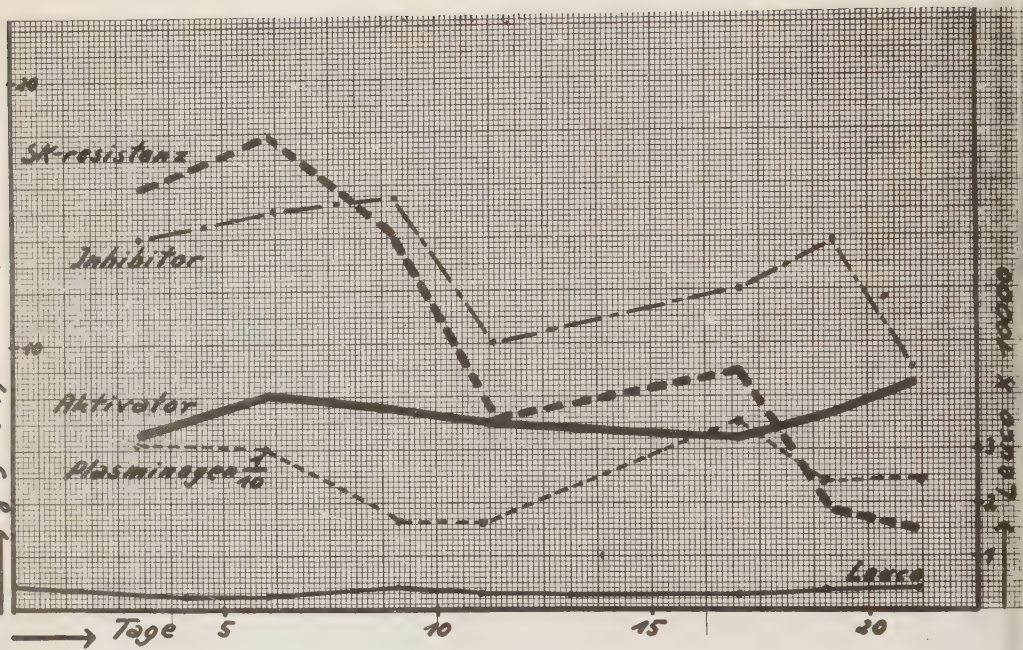


Abb. 11: Verhalten von Aktivator, Plasminogen, Inhibitor, Streptokinaseresistenz und Leukocytenzahl während einer Kontrollzeit von 18 Tagen bei einem Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie.

Leukocytenzahlen im Blut nicht oder nur geringfügig von der Norm abweichen. Bei einem 53-jährigen Patienten mit akuter Paramyelo-blastenleukose (Abb. 10) zeigte der Aktivator zwar Schwankungen, die jedoch nur unwesentlich waren und den Normalbereich kaum überschritten. Der Inhibitor liegt hier überraschend hoch, während die niedrigen Streptokinaseresistenz-Werte auf einen, immuno-logisch bedingten, hohen Antistreptokinasetiter hinweisen.

Die Leukocytenzahlen des 41-jährigen Patienten in Abb. 11, der

an einer chronischen myeloischen Leukämie litt, befanden sich unter der Norm, zwischen 2000 und 4000. Entsprechend zeigt auch der Aktivator ein Absinken unter seinen Normalbereich, ohne größere Schwankungen. Die Bewegung der Inhibitorenkurven scheint von der Leukocytenzahl unabhängig zu sein. Das Plasminogen verhält sich ähnlich wie der Aktivator.

DISKUSSION

Die im experimentellen Teil dieser Arbeit gemachten Beobachtungen bestätigen im Wesentlichen die Erkenntnisse, die J. Jürgens (35) auf diesem Gebiet gewonnen hat.

Es konnte nachgewiesen werden, dass bei Leukosen regelmäßig eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems vorhanden war. Diese Tatsache bestätigt, dass fibrinolytische Blutungen bei der Leukämie möglich sind und sicher nicht selten auftreten. Da wir wissen, dass es leukämische Blutungen gibt, welche weder durch einen Thrombocytenmangel noch durch Störungen der plasmatischen Gerinnungsfaktoren, noch durch vaskuläre Faktoren zu erklären sind, müssen wir annehmen, dass in diesen Fällen echte fibrinolytische Blutungen vorliegen. Gleichzeitig kann man sich vorstellen, dass die häufig auftretenden thrombopenischen Blutungen möglicherweise durch fibrinolytische Kräfte unterstützt und verstärkt werden, zumal die Steigerung der fibrinolytischen Aktivität bei Leukosen mit entsprechend hoher Leukocytenzahl im peripheren Blut stets zu finden ist.

Die Aktivierung der Fibrinolyse beruht, wie unsere Untersuchungen be-

stätigen., nicht auf einer Vermehrung des eigentlichen lytischen Fermentes Plasmin. Vielmehr wird ein Aktivator des Plasminogens im Plasma in erhöhtem Maße gefunden (Abb 2). Dieser in der Literatur als "Blutaktivator" bezeichnete fibrinolytische Faktor zeigt eine auffallende Abhängigkeit von der Leukocytenzahl. Diese Abhängigkeit, die schon bei der Querschnittsuntersuchung auffällt (Abb. 2), tritt deutlich zutage, wenn man jeweils bei einem Patienten die Schwankungen von Leukocytenzahl und Aktivatorgehalt des Plasmas untersucht (Abb. 6 - 11) .

Während bei normalen Leukocytenzahlen ohne Schwankungen auch der Aktivator Werte des Normalbereiches zeigt, folgt einem raschen Anstieg der Leukocyten eine Vermehrung des Aktivators. Diese Beobachtung deutet auf den Ursprung des Aktivators hin: die Leukocyten können als seine Bildungsstätte angesehen werden. Sie sind vermutlich in der Lage, den produzierten Aktivator direkt an ihre Umgebung, das Plasma, abzugeben. Mit einem Leukocytenanstieg ist somit eine Erhöhung der Freisetzungsquote verbunden.

Zwischen dem Leukocytenanstieg und der Aktivatorausschüttung liegt eine Zeitspanne von etwa 8 Tagen (Abb. 6 - 7) . Diese Tatsache deutet darauf hin, dass erst zerfallende Leukocyten den Aktivator abgeben können.

Eine andere Erscheinung unterstreicht diese Annahme: bei raschem Absinken der Leukocytenzahl; d.h. also bei vermehrtem Leukocytenzerfall, findet man ebenfalls einen Anstieg des Aktivators. Dies hatte auch J. J ü r g e n s beobachtet.

Seine Untersuchungen ergaben weiter, dass Leukocytenkonzentrate im Vergleich zum Plasma so hohen Aktivatorgehalt aufweisen, dass es außer Frage steht, in den Leukocyten die Bildungsstätte dieses Aktivators zu sehen.

Bisher war dieser Aktivator als humoraler Wirkstoff angesehen und als "Blutaktivator" bezeichnet worden. Heute steht nun fest, dass dieser Faktor des fibrinolytischen Systems, wie die Fibrinokinasen aus anderen Geweben, ebenfalls zellulären Ursprungs ist. Zu dieser Erkenntnis haben die Untersuchungen von J. Jürgens (35) - und damit auch unsere eigenen Ergebnisse - wesentlich beigetragen. Die fibrinolytischen Blutungen bei Leukosen sind danach durchaus vergleichbar mit fibrinolytischen Blutungen, wie sie bei operativen Eingriffen, in der Geburtshilfe, bei Ca u. a. bekannt sind.

Durch die enorme Fibrinolyse-Aktivierung kann der Vorrat an Plasminogen zusammenschrumpfen. Besteht die Aktivierung über längere Zeit, so kann man beobachten, wie nach anfänglichem Absinken eine Nachbildung des Plasminogens einsetzt. Auch die Inhibitoren scheinen von der Aktivierung der Fibrinolyse betroffen zu werden, man findet sie erniedrigt, wenn der Aktivatorgehalt - und damit auch die Menge an Plasmin - sehr hoch liegt. Sie reichen wohl mengenmäßig nicht ganz aus, um die Aktivator- und Plasmin-Mengen zu "neutralisieren", und werden bald erschöpft.

Die Antistreptokinase zeigt ein uncharakteristisches Verhalten. Sie hat mit dem Fibrinolyse-Problem bei der Leukämie keinen Zusammenhang. Ihr Gehalt im Blut scheint eher abhängig zu sein von Infektionen mit Streptokokken und ihren Toxinen, wobei sie die Aufgabe hat, einer zu starken Aktivierung der Fibrinolyse durch die Streptokinase entgegen-

zuwirken.

Wie schon J. J ü r g e n s festgestellt hatte, konnten auch wir bestätigen, dass ein Unterschied zwischen myeloischen und lymphatischen Leukämien auf diesem Gebiet nicht besteht.

Die Therapie der Leukosen ist ein bis heute ungelöstes Problem. Da Ursache und Wesen der Leukämie noch ungeklärt sind, und damit eine Kausaltherapie nicht möglich ist, ist man darauf angewiesen, den Symptomen und Komplikationen durch einzelne, verschiedene Mittel zu begegnen. Neben der Anwendung von Medikamenten, welche die Leukocytenzahl beeinflussen, wie Demecolcin, 6- Merkaptopurin (Puri Nethol), Steroiden u.a., bekämpft man also die gleichzeitige Anämie durch Austauschtransfusionen und beugt einer Sepsis dadurch vor, dass man die erliegenden Abwehrkräfte durch Antibiotica unterstützt und ersetzt (48). Über die fibrinolytischen Blutungen, die bei akuten Schüben zu den gefürchteten Komplikationen zählen, sollte man durch Medikamente Herr zu werden versuchen, die der Fibrinolysesteigerung entgegenwirken. Solche Antifibrinolytica stehen uns heute zur Verfügung, nämlich Epsilon-amino-capron-säure (Firma Hoffmann-La Roche, Basel) und Trasylol (Firma Bayer, Leverkusen). Leider liegen noch wenige Erfahrungen über eine solche Therapiemöglichkeit vor, so dass Untersuchungen auf diesem Gebiet sehr zu begrüßen wären.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wird ein Überblick über das fibrinolytische System und seine bisherige Erforschung gegeben und die physiologische Bedeutung der Fibrinolyse hervorgehoben.
2. Mit einer Modifikation der Casein-Methode von Remmert, Cohen, Ferguson, und Sgouris wurden die fibrinolytischen Faktoren bei 21 Leukosen bestimmt und in Abbildungen mit den Normal-Bereichen verglichen.
Bei 6 weiteren Patienten wurden Verlaufskontrollen der einzelnen Faktoren sowie der Leukocytenzahl durchgeführt, die Untersuchungsergebnisse in Abbildungen dargestellt und beurteilt.
3. Die Untersuchungen ergeben, dass bei Leukosen eine von der Leukocytenzahl abhängige Steigerung der fibrinolytischen Aktivität vorliegt, welche auf einer Vermehrung des Plasminogen-Aktivators beruht.

Dieser Aktivator ist zellulären Ursprungs, wird in den Leukocyten gebildet und tritt wahrscheinlich bei deren Zerfall ins Plasma über. Dafür sprechen Aktivator-Erhöhungen sowohl bei Leukocytenanstieg - mit etwa 8 Tagen Latenz -, als auch Leukocytenremissionen.

Die Aktivatorsteigerung bedingt einen Verbrauch des Plasminogens. Ebenso scheinen bei sehr hohen Werten für Aktivator und Plasmin die entsprechenden Inhibitoren mengenmäßig nicht auszureichen und bald erschöpft zu sein.

Die Streptokinaseresistenz hat keine Beziehung zu dem Problem "Fibrinolyse und Leukämie".

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1) A l b r e c h t s e n , O.K. Fibrinolytic activity in
and human saliva .
T h a y s e n , J.H.
Act. physiol. Scand. 35
S. 138 (1955)
- 2) A s t r u p , T . Fibrinolysis in the
Biol. Inst. Carlsberg Found. organism.
Blood 11
S. 781 (1956)
- 3) A s t r u p , T . Fibrinokinase and
and fibrinolytic enzymes.
P e r m i n , P.M.
Nature 161
S. 689 (1948)
- 4) A s t r u p , T . An activator of plasmi-
and nogen in normal urine.
S t e r n d o r f f , J.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 81
S. 675 (1952)
- 5) A s t r u p , T . Fibrinolytic activity
and of tissue extracts and
S t e r n d o r f f , J . of trypsin.
Nature 170
S. 981 (1952)
- 6) A s t r u p , T . A fibrinolytic system
and in human milk.
S t e r n d o r f f , J.
Proc.Soc.Exp.Biol. NY 84
S. 605 (1953)

- 7) A s t r u p , T.
and
P e r m i n , P.M.
Nature 159
S. 681 (1947)
Fibrinolysis in animal
organism.
- 8) A s t r u p , T.
Blood clotting and allied
problems, 1st conf. Josiah
Macey Found., New York
S. 28 (1948)
Fibrinolytic enzymes.
- 9) A s t r u p , T.
Biochem. J. 50
S. 5 (1951)
The activation of a
proteolytic enzyme in
blood by animal tissue.
- 10) A s t r u p , T.
and
M ü l l e r t z , S.
Arch.Biochem.and Biophys. 40
S. 346 (1952)
The fibrin plate method
for estimating fibrino-
lytic activity.
- 11) A s t r u p , T.
Biol.Inst.Carlsberg Found.
Acta haematol. 7
S. 271 (1952)
Fibrinolysis.
- 12) A s t r u p , T.
The Lancet 271
S. 565 (1956)
The biological signifi-
cance of fibrinolysis.
- 13) B i g g s , R.
and
M a c F a r l a n e , R.G.
Oxford 1957 2nd edit.ch.XI
Human blood coagulation

- 14) Biggs, R.
MacFarlane and /R.G.
Pilling, J.
The Lancet 1
S. 402 (1947)
- 15) Christensen, L.R.
and
Smith, D.H.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 74
S. 840 (1950)
- 16) Christensen, L.R.
and
MacLeod, C.M.
J.Gen.Physiol. 28
S. 559 (1945)
- 17) Christensen, L.R.
J.Gen.Physiol. 30
S. 149 (1946)
- 18) Cooperberg, A.A.
and
Neiman, M.A.
Ann.Int.Med. 42
S. 706 (1955)
- 19) Dale,
and
Walpole
Biochem. J. 10
S. 331 (1916)
- Observations on fibrinolysin. Experimental activity produced by exercise of adrenaline.
- Plasminogen purification by acid extraction.
- A proteolytic enzyme of serum. Charakterisation, activation and reaction with inhibitors.
- The activation of plasminogen by chloroform.
- Fibrinogenopenia and fibrinolysis in acute myelogenous leucemia
- Zit. n. V. Kaulla, K.N.
Ztschr. Inn. Med. 8
S. 329 (1952)
Gibt es Wege zur therapeutischen Verwertung der Fibrinolyse?

- 20) D a s t r e , A.
Arth.Int. Physiol.Norm.
et Pathol. 5
S. 661 (1893)
- 21) D e n i s , P.S.
Bechetjne. 366
Paris (1838)
- 22) D e u t s c h , E.
and
E l s n e r , P.
Thromb.Diath.Haem. 3
S. 286 (1959)
- 23) D e u t s c h , E.
and
E l s n e r , P.
Amer. J. Card. 6
S. 420 (1960)
- Fibrinolyse dans le
sang.
Zit.: A s t r u p , T.
Biol.Inst.Carlsberg Found.
Acta haematol. 7
S. 271 (1952)
- Essai sur l'application
de la chimie á l'étude
physiologique du sang de
l'homme et á l'étude
physiologico-pathologique,
hygiénique et thérapeu-
tique des maladies de cette humeur
Zit.: A s t r u p , T.
Biol.Inst.Carlsberg Found.
Acta haematol. 7
S. 271 (1952)
- The mechanism. of fibrinolysis
induced by bacterial pyrogens.
- Pyrogens as thrombolytic
agents.

- 24) Doyon , M.
et
Kareff , N.
C.R.Soc.Biol. 58
S. 30 (1905)
- 25) Eichenberger , E.
und
Schönholzer , G.
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 62
S. 200 (1956)
- 26) Ferguson , J.G.
J.Lab.Clin.Med. 28
S. 1156 (1943)
- 27) Giraud , G.
Cazal , P.
Latour , H.
Izarn , P.
Lévy , A.
Barjon , P.
et
Ribstein
Sang 25
S. 628 (1954)
- 28) Gross , R.
Dtsch.Ges.Inn.Med.
66. Kongress
S. 813 (1960)
- Incoabilité du sang provoquée
par le chloroform. Rôle du foie.
- Fibrinolyse als Form der
unspezifischen Reizbeant-
wortung.
- Zit.: Jürgens , J.
Fol.haematol. Neue Folge 8
1 - 4 (1963)
- Syndr òme hémorrhagique
mortel par fibrinolyse aiguë
au cours d'une leucose
myeloïde.
- Pathophysiologie und Klinik
der Thrombocytopathien.

- 29) G r o s s , R.
und
P r o l l , G.
Klin. Wschr. 33
S. 1031 (1955)
Über Dysthrombocyctosen
- 30) H a l s e , Th.
Editio Cantor
(1948)
Fibrinolyse. Eine experimen-
telle und klinische Studie
über die 4. Phase der Blut-
gerinnung.
- 31) H a l s e , Th.
Schweiz.Med.Wschr. 441
S. 413 (1943)
Über die vegetative Regulation
der Fibrinolyse.
- 32) H o f f , F.
5. Auflage (1957)
Klinische Physiologie und
Pathologie.
- 33) J o h n s o n , G.W.
and
G i b s o n , R.B.
Amer.J.Clin.Path. 8
S. 22 (1938)
The determination of blood
plasma and spinal fluid
protein.
- 34) J ü r g e n s , J.
Dtsch.Med.Wschr. 51
S. 2286 (1959)
Die klinische Bedeutung
fibrinolytischer Vorgänge.
- 35) J ü r g e n s , J.
Fol.haematol.Neue Folge 8
1 - 4 (1963)
Das Verhalten des fibrino-
lytischen Systems bei der
Leukämie.
- 36) v. K a u l l a , K.N.
Proc.Soc.Exp.Biol. 83
S. 692 (1953)
Relationship between seminal
fluid and fibrinolytic system.

- 37) K l i n e , D.L.
and
F i s h m a n , J.B.
Ann.of New York Acad.of Sci.68
S. 25 (1957)
Plasmin: the humoral
protease.
- 38) K l i n e , D.L.
and
F i s h m a n , J.B.
Fed. Proc. 19
S. 58
Isolation of purified
plasmin.
- 39) K l i n e , D.L.
and
F i s h m a n , J.B.
Amer.J.Cardiol. 6
S. 387 (1960)
Purification of components
of the plasmin
- 40) K o c h o l a t y , W.
E l l i s , W.W.
and
J e n s e n , H.
Blood 7
S. 882 (1952)
Activation of plasminogen
by trypsin and plasmin.
- 41) K o l l e r , F.
Amer.J.Card. 6
S. 367 (1960)
The development of our
knowledge of fibrinolysis.
- 42) K o w a r z y k , H.
and
B u l u k , K.
Post.Hig.i.Med.Dósw. 2
S. 1 (1950)

- 43) L e w i s , J.H.
and
F e r g u s o n , J.H.
J.Clin.Invest. 29
S. 1059 (1950)
Studies on a proteolytic
enzyme system of the blood.
II. Fibrinolyso-kinase
activators for profibrinolysin.
- 44) M i l s t o n e , J.H.
J. Immunol. 42
S. 109 (1941)
A factor of normal human
blood which participates
in streptococcal fibrinolysis.
- 45) M ü l l e r t z , S.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 82
S. 291 (1953)
A plasminogen activator
in spontaneously active
human blood.
- 46) M ü l l e r t z , S.
Act.Physiol.Scand. 28
S. 29 (1953)
The action of plasmin
on fibrin and fibrinogen
in blood
- 47) M ü l l e r t z , S.
and
L a s s e n
Proc.Soc.Exp. Biol.Med.82
An activator system in
blood indispensable for
formation of plasmin by
streptokinase.
- 48) P i n e y , A.
and
B e d e r , A.
Handb. d. ges. Häm. 4/2
S. 116 (1963)
Acute and subacute myelosis
- 49) P i s c i o t t a , V.
and
S c h u l z , E.J.
Americ. J. Med. 19
S. 824 (1955)
Fibrinolytic purpura in
acute leukemia.

- 50) Permin , P.M.
Nature 160
S. 571 (1947)
Properties of the fibrinokinase
fibrinolysin system.
- 51) Ratnoff , O.D.
and
Donaldson , V.H.
Amer.J.Card. 6
S. 378 (1960)
Physiologic and pathologic
effects of increased fibrinolytic
activity in man.
- 52) Remmert , L.F.
and
Cohen , P.P.
J. Biol. Chem. 181
S. 431 (1949)
Partial purification and
properties of a proteolytic
of human serum.
- 53) Risak , E.
Ztschr.f.Klin.Med. 128
S. 605 (1935)
The fibrinopenie
- 54) Rocha e Silva , M.
and
Rimington , C.
J. Biol.Chem. 213
S. 655 (1955)
Studies on the activation and
purification of blood fibrinolysin.
- 55) Rotter , W.
und
Buengeler , W.
aus Kaufmann: Lehrbuch der
spez. path. Anat. I
S. 414 (1955)
Blut und blutbildende Organe.

- 56) S g o u r i s , J.T.
In m a n , J. K.
Mac C a l l , K.B.
H y n d m a n , L.A.
and
A n d e r s o n , H.D.
Vox Sang 5
S. 357 (1960)
- The preparation of human
fibrinolysin (plasmin) .
Zit.: J ü r g e n s , J.
Fol. haematol. Neue Folge 8
1 - 4 (1963)
- 57) S t e f a n i n i , M.
Blood 7
S. 1044 (1952)
- Fibrinolysis and "fibrinolytic
purpura"
- 58) S t o r m , O.
Scand.J.Clin.Lab.Invest. 7
S. 55 (1955)
- Fibrinolytic activity in
human tears.
- 59) T a g n o n , H.J.
J.Lab.Clin.Med. 27
S. 1192 (1942)
- The significance of fibrinolysis
in mechanism. of coagulation
of blood.
- 60) T i l l e t , W.S.
and
G a r n e r , R.L.
J.Exp.Med. 58
S. 485 (1933)
- The fibrinolytic activity of
hemolytic streptococci.
- 61) U n g a r , G.
and
D a m g a a r d , E.
J.Exp.Med. 93
S. 89 (1951)
- Studies on the fibrinolysin-
antifibrinolysin system in
serum. I. Action of the
anterior pituitary, adrenal
cortex and spleen.

62) Van Creveld, S.
and
Mochtar, J.A.
An, Paed. 194
S. 65 (1960)

Fibrinolysis in acute leukemia.

63) Williams, J.R.B.
Brit.J. Exp.Path. 32
S. 530 (1951)

The fibrinolytic activity of urine.

64) Yudin, S.
Pr. Méd. 44
S. 68 (1936)

La transfusion du sang de
cadavre aux êtres humains.

Zit.: Astrup, T. The Lancet
271, S. 565 (1956)

Lebenslauf

Ich bin am 26. Dezember 1939 als Sohn des Dentisten Karl Beckmann und seiner Ehefrau Agnes, geb. Stier in Berlin geboren. In St. Wendel/Saar besuchte ich die Volksschule und legte am Gymnasium Wendalinum in St. Wendel 1958 die Reifeprüfung ab. Ich begann im gleichen Jahr das Studium der Zahnheilkunde in Frankfurt/Main, wo ich im Sommer 1960 die zahnärztliche Vorprüfung und am 15. Juli 1963 das zahnärztliche Staatsexamen bestand.

Frankfurt/M., den 1.6.64

Peter Beckmann

Meine akademischen Lehrer waren:

Prof. Dr. Artelt

Prof. Dr. Lapp

Prof. Dr. Czerny

Prof. Dr. Martin

Prof. Dr. Dänzer

Prof. Dr. Müser

Prof. Dr. Felix

Prof. Dr. Ortmann

Prof. Dr. Frey

Prof. Dr. v. Reckow

Prof. Dr. Frick

Prof. Dr. Ried

Prof. Dr. Giersberg

Oberarzt Dr. Ristow

Prof. Dr. Graff

Prof. Dr. Róka

Prof. Dr. Hauser

Prof. Dr. Rotter

Prof. Dr. Heinz

Prof. Dr. Royen

Prof. Dr. Herrmann

Prof. Dr. Sandritter

Prof. Dr. Hübner

Prof. Dr. Starck

Prof. Dr. Jürgens

Prof. Dr. Steigleder

Prof. Dr. Kleinschmidt

Oberarzt Dr. Weber

Oberarzt Dr. Koller

Prof. Dr. Westermann

Prof. Dr. Kuck

Prof. Dr. Wezler

Prof. Dr. Landes

Prof. Dr. Wieland

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zu Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS FIBRINOLYTISCHE SYSTEM BEI LEUKOSEN

in der II. Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt/Main unter Leitung von Prof. Dr. J. Jürgens ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt/Main, den 1.6.64

Peter Beckmann

Peter Beckmann

VEREINIGTE KÖNIGREICH

Im Jahr 1801 ist das erste Mal mit dem Namen
"United Kingdom" in der Geschichte der britischen
Geschichte zu lesen.

Das erste Mal, das der Name "United Kingdom" in der

Geschichte zu lesen.

Im Jahr 1801 ist das erste Mal mit dem Namen

"United Kingdom" in der Geschichte der britischen

Geschichte zu lesen.

Das erste Mal, das der Name "United Kingdom" in der

Geschichte zu lesen.

Im Jahr 1801 ist das erste Mal mit dem Namen

"United Kingdom" in der Geschichte der britischen

Geschichte zu lesen.

Im Jahr 1801 ist das erste Mal mit dem Namen

"United Kingdom" in der Geschichte der britischen

